

Aus der Hautklinik der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. Dr. phil. A. Greither

**Untersuchungsbefunde
bei der humanen Porphyrie
(Porphyria Cutanea Tarda)
und der
Hexachlorbenzol-induzierten Porphyrie
der Ratte**

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Klaus Stenzel

1978

Triltsch Druck und Verlag Düsseldorf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Hautklinik der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr.med.Dr.phil. A. GREITHER

UNTERSUCHUNGSBEFUNDE
BEI DER HUMANEN PORPHYRIE (PORPHYRIA CUTANEA TARDA)
UND DER HEXACHLORBENZOL-INDUZIERTEN PORPHYRIE
DER RATTE

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Klaus Stenzel

1978



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof.Dr.A.Hopf

Referent
gez.: Prof.Dr.G.Goerz
Korreferent
gez.: Prof.Dr.M.Straßburg

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung

1

1. Porphyrinbiosynthese

1

2. Überblick über die verschiedenen Porphyrien

4

2.1. Erythropoetische Porphyrien

5

2.2. Hepatische Porphyrien

7

3. Therapeutische Möglichkeiten bei den Porphyrien

12

4. Experimentelle Porphyrien unter besonderer Berücksichtigung des Porphyrogens Hexachlorbenzol (HCB)

14

II. Problemstellung

18

III. Materialien und Methoden

19

1. Materialien

19

1.1. Haltung und Behandlung der Versuchstiere

19

	Seite
1.2. PCT-Patienten mit unterschiedlichen Therapie-Maßnahmen	20
1.2.1. PCT-Patienten mit Aderlaß-Behandlung	20
1.2.2. PCT-Patienten mit Resochin ^R -Therapie	20
1.2.3. PCT-Patient mit Potaba ^R -Behandlung	21
1.3. Kontroll-Personen	21
2. Methoden	21
2.1. Porphyrinbestimmung im Urin	21
2.2. Porphobilinogen- und ALA-Bestimmung	21
2.3. Herstellung des Leberhomogenates	22
2.4. Herstellung des Bluthämolyrates	22
2.5. Bestimmung der Katalaseaktivität	22
2.6. Proteinbestimmung	26
2.7. Glycinbestimmung	27
2.8. Glutathionbestimmung	28
<u>IV. Ergebnisse und Diskussion</u>	30
1. Vorversuche	30
2. Untersuchungsergebnisse des Tierexperimentes	30

	Seite
3. Ergebnisse der Blutuntersuchungen bei den PCT-Patienten und Kontroll- Personen	38
3.1. Befunde bei den Kontroll- Personen	38
3.2. Befunde bei den PCT-Patienten	40
3.3. Einfluß der Therapien auf die Befunde bei den PCT-Patienten	42
3.3.1. Aderlaß- und Resochin ^R - Therapie	42
3.3.2. Therapieversuch mit p-Aminobenzoat (PABA) Kasuistische Darstellung	44
 <u>V. Zusammenfassende Diskussion</u>	 48
 <u>VI. Zusammenfassung</u>	 52
 <u>VII. Abkürzungsverzeichnis</u>	 54
 <u>VIII. Literaturverzeichnis</u>	 55
 <u>IX. Danksagung</u>	 62
 <u>X. Lebenslauf</u>	 63

I. Einleitung (4, 31, 39, 50)

Die Porphyrine sind in der Natur weit verbreitet und am Stoffwechsel von Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen beteiligt. Sie sind jedoch nicht Substrate des Energiestoffwechsels wie Aminosäuren, Kohlenhydrate und Lipide, sondern wirken direkt oder indirekt als Katalysatoren bzw. prosthetische Gruppen in Enzymen und Farbstoffen bei der biologischen Oxydation. Wegen ihrer hohen thermischen Stabilität gehören die Porphyrine zu den hitzeunempfindlichsten organischen Verbindungen. Alle Porphyrine und deren Derivate sind stark gefärbt, und zwar häufig tiefrot, weil sie selektiv Licht bestimmter Wellenlängen aus dem sichtbaren Spektrum absorbieren. Ferner weisen sie sehr scharfe, charakteristische Absorptionsbanden auf, die zu ihrer Bestimmung und Identifizierung herangezogen werden. Allen gemeinsam ist ein Absorptionsmaximum bei etwa 400 nm, der sog. Soret-Bande. Sämtliche Porphyrinderivate zeigen darüber hinaus die Fähigkeit zur Fluoreszenz.

Eine wichtige Eigenschaft der Porphyrine besteht in ihrer Neigung zur Komplexbildung mit Metallen (Eisen, Magnesium, Zink). Im Chlorophyll der Pflanzen liegt Magnesium, im roten Blutfarbstoff sowie in zahlreichen anderen Enzymen wie Cytochromen, Katalasen und Peroxidasen liegt Eisen als Metallkern vor.

1. Porphyrinbiosynthese (4, 31, 39, 50)

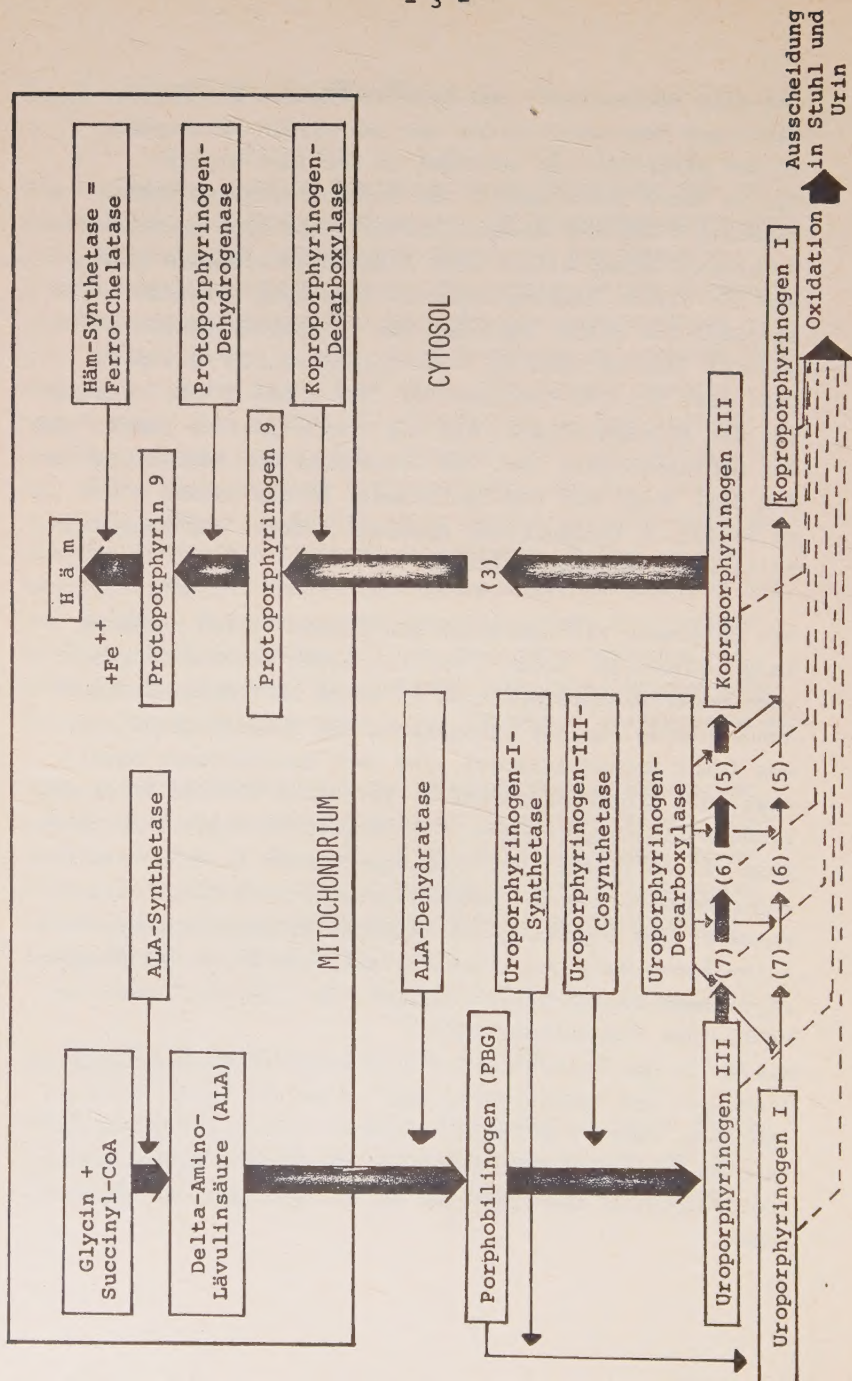
Die Porphyrinbiosynthese (Abb. 1) findet in jeder Zelle, vornehmlich jedoch im erythropoetischen System und im Leberparenchym, statt. Isotopenversuche haben gezeigt,

daß alle Kohlenstoff- und Stickstoffatome des Porphyrinringes dem Succinyl-CoA und dem Glycin entstammen. In den Mitochondrien entsteht im Succinat-Glycin-Cyclus durch Kondensation von Succinyl-CoA und Glycin zunächst α -Amino- β -ketoadipinsäure, und nach spontaner Decarboxylierung bildet sich δ -Aminolävulinsäure (ALA). Das für diesen Reaktionsschritt benötigte Substrat Succinyl-CoA stammt entweder aus dem Aminosäurestoffwechsel (Glutaminsäure $\rightarrow$ α -Ketoglutaronsäure $\rightarrow$ Succinyl-CoA) oder aus dem Citratcyclus. Das Enzym dieser Reaktion ist die ALA-Synthetase, die das "rate-limiting enzyme" (22) der Hämbiosynthese ist. Das Endprodukt der Hämbiosynthese, das Häm, hemmt die ALA-Synthetase, so daß dieses - wie so häufig in biologischen Systemen - durch Rückkopplung seine Synthese kontrolliert.

Die folgenden biochemischen Reaktionen laufen zunächst im Zytoplasma ab, wobei 2 Mol ALA durch die ALA-Dehydratase unter Wasserabspaltung zu einem Mol Porphobilinogen kondensieren. An der Biosynthese des Uroporphyrinogens aus 4 Mol Porphobilinogen sind zwei Enzymsysteme beteiligt: die Uroporphyrinogen-I-Synthetase und die Uroporphyrinogen-III-Cosynthetase. Die Uroporphyrinogen-I-Synthetase allein liefert nur Uroporphyrinogen I; durch das Zusammenspiel mit der Uroporphyrinogen-III-Cosynthetase entsteht das physiologisch wichtige Uroporphyrinogen-III. In weiteren Decarboxylierungsreaktionen durch die Uroporphyrinogen-Decarboxylase entsteht über Hepta-, Hexa- und Penta- das Koproporphyrinogen.

Wieder in den Mitochondrien wird in weiteren Decarboxylierungs- und Dehydrierungsreaktionen das Protoporphyrin gebildet. Durch die Ferrochelatase - aktiviert durch Glutathion bzw. Ergothionein - wird 2-wertiges Eisen in das Protoporphyrin eingebaut und so die Synthese des Häms vollendet.

Abb. 1: Biosynthese der Porphyrine, modifiziert (1)



2. Überblick über die verschiedenen Porphyrien

Den Porphyrien liegt meist eine Störung einzelner oder mehrerer Enzyme der Hämbiosynthese zugrunde. Durch einen angeborenen oder erworbenen Enzymdefekt kommt es zum Anstau und Überschuß von Porphyrinen oder Porphyrinvorstufen, die dann vermehrt in Geweben und Körperflüssigkeiten vorkommen und zu charakteristischen Krankheitsbildern führen. Neben unterschiedlich schweren Allgemeinsymptomen stehen bei den Porphyrien folgende klinische Leitsymptome im Vordergrund:

- a) Hautveränderungen in Form einer Lichtdermatose mit Blasen- und Geschwürsbildung durch mechanische Belastung an lichtexponierten Hautregionen (aktinisch-traumatische bullöse Photodermatose),
- b) abdominelle Symptome in Form von krisenhaften Koliken mit Leibschmerzen, Erbrechen und Obstipationen,
- c) neurologische Symptome wie Parästhesien, Neuritiden, Lähmungen und Störungen des psychischen Verhaltens,
- d) Rot- oder Braunverfärbung des Urins.

Die Porphyrien werden nach SCHMID, SCHWARTZ und WATSON (56) in erythropoetische und hepatische Formen eingeteilt. Bei den erythropoetischen Porphyrien ist in erster Linie das erythropoetische Gewebe des Knochenmarks Ort der gestörten Porphyrinsynthese, während die Porphyrinsynthese in der Leber normal abläuft. Obwohl in letzter Zeit einige Befunde auch für eine Mitbeteiligung der Leber und

anderer Gewebe bei der Porphyria erythropoetica congenita (Morbus GÜNTHER) und besonders bei der erythropoetischen Protoporphyrurie sprechen (40, 43, 57, 71), wird an der Bezeichnung "erythropoetisch" statt "erythrohepatisch" (57) festgehalten.

2.1. Erythropoetische Porphyrien

Zu den angeborenen erythropoetischen Porphyrien zählen die Porphyria erythropoetica congenita (Morbus GÜNTHER), die erythropoetische Protoporphyrurie und die erythropoetische Koproporphyrurie. Diese angeborenen Krankheitsbilder manifestieren sich klinisch meist im Säuglings- oder Kleinkindalter.

Das Leitsymptom der Porphyria erythropoetica congenita ist meist eine Rotverfärbung des Urins. Wegen der extremen Empfindlichkeit der Haut gegenüber Druck und Lichteinwirkung treten nach Bagatelltraumen und geringer Sonneneinstrahlung an den lichtexponierten Hautarealen umschriebene Erytheme und subepidermale Blasen auf. Spontan und besonders nach Infektionen können sich daraus oberflächliche Geschwüre entwickeln, die nur langsam narbig und meist pigmentiert abheilen. Durch diese rezidivierend auftretenden Läsionen bilden sich allmählich die typischen sekundären Hautveränderungen, die durch Narben und Mutilation der lichtexponierten Ohren gekennzeichnet sind. Die Finger atrophieren, und es entstehen infolge dermatogener Kontrakturen die typischen "Klauenhände".

Das Gesicht dieser Patienten wird durch die fortschreitende Zerstörung der Nasenspitze und der Ohrmuscheln sowie durch Narbenzug im Bereich der Augenlider entstellt. Die Zähne der Patienten mit Porphyria erythropoetica congenita sind durch Einlagerungen von Porphyrinen während der Ent-

wicklung der Zahnkeime braunrot oder braungelblich verfärbt und fluoreszieren intensiv rot im UV-Licht. Der Urin dieser Patienten fluoresziert im UV-Licht ebenso wie auch der Inhalt frischer Hautblasen und bis zu 10 % der Erythrozyten, die deshalb Fluorozyten genannt werden. Die häufig vorkommende hämolytische Anämie führt in vielen Fällen zu einer Splenomegalie. Mit dem Stuhl und Urin werden vermehrt Uro- und Koproporphyrine ausgeschieden. In den Erythrozyten herrscht das Uroporphyrin gegenüber den anderen Porphyrinmetaboliten vor. Da dem Enzymdefekt beim Morbus GÜNTHER ein Mangel an Uroporphyrinogen-III-Cosynthetase zugrunde liegt, kommen die vermehrten Porphyrine meist als Isomere vom Typ I vor.

Die erythropoetische Protoporphyririe (EPP) wurde 1953 erstmals von KOSENOW und TREIBS (33) erwähnt, später von LANGHOF und Mitarb. (35) beschrieben und von MAGNUS und Mitarb. (38) pathogenetisch abgeklärt. Unterteilt wird diese Krankheit in eine Form mit bleibenden Hautveränderungen und eine Form mit passageren urticariellen Erythemen nach Sonnenexpositionen. Die Erkrankung tritt besonders im Frühjahr und während des Sommers unter der Sonneneinwirkung auf, wobei UV-A-Strahlung (Licht, das durch die Fensterscheiben dringt) noch voll wirksam ist. An der lichtexponierten Haut treten Parästhesien, Juckreiz oder Brennen auf, und die Erytheme können sich zu kissenartigen, teigigen Schwellungen umwandeln. Bei der Form mit chronischer Hautmanifestation findet sich an den lichtexponierten Hautpartien, z.B. am Nasen- oder Handrücken, ein an eine "Lipoproteinoase" (URBACH-WIETHE) erinnerndes Infiltrat.

Bei der erythropoetischen Protoporphyririe herrscht in den

Fluorocyten das Protoporphyrin vor, während das Koproporphyrin nur maximal 10 % ausmacht. Die Faeces enthalten mitunter vermehrt Protoporphyrin; die Porphyrinausscheidung im Harn ist dagegen immer normal.

Die erythropoetische Koproporphyririe wurde 1964 zuerst von HEILMEYER und CLOTTEN (23) beschrieben.

Bei diesem Krankheitsbild werden in den Erythrozyten starke Vermehrungen der Koproporphyrine nachgewiesen, bei gleichzeitig auch gering erhöhten Uro- und Protoporphyrinwerten.

Ähnlich wie beim Morbus GÜNTHER treten auch bei der erythropoetischen Koproporphyririe nach Sonnenexposition an den belichteten Hautbezirken schmerzhaftes Schwellungen auf, aus denen Blasen entstehen können. Im weiteren Verlauf werden diese zu umschriebenen, derb-atrophischen und z.T. pigmentierten Narben umgewandelt. Geringfügige Mutilationen an der Nase und an den Ohrmuscheln werden nach Jahren ebenfalls beobachtet. Die Ausscheidung der Porphyrine mit dem Harn und Stuhl ist nicht verändert.

2.2. Hepatische Porphyrien

Den erythropoetischen Porphyrien stehen die hepatischen Formen gegenüber. Zu ihnen gehören:

- a) die Porphyria cutanea tarda (PCT),
- b) die akute intermittierende Porphyrie (AIP),
- c) die Porphyria variegata oder "gemischte Porphyrie",
- d) die hereditäre Koproporphyririe.

Die hepatischen Porphyrrien kommen wesentlich häufiger vor als die erythropoetischen und manifestieren sich im Gegensatz zu diesen meist erst in der Pubertät oder im Erwachsenenalter. Der Häm-synthesedefekt wirkt sich hierbei in erster Linie in der Leber aus (39).

Unter den hepatischen Porphyrrien ist die Porphyrria cutanea tarda (PCT) am weitesten verbreitet. Häufigkeitsangaben schwanken zwischen 0,03 und 1 %. WALL-MEIER (70) fand bei ca. 850 Autopsien eine Häufigkeit von 1 %, wobei die Rotfluoreszenz der Leber zugrunde gelegt wurde. Dabei wurde die Gesamtzahl der chronisch hepatischen Porphyrrien erfaßt, nicht aber die PCT allein, wenn die Differenzierung nach DOSS und Mitarb. (9) berücksichtigt wird.

In der Mehrzahl der Fälle kommt die PCT nicht familiär gehäuft vor (7, 24, 27, 70), obwohl auch Familien mit einem dominanten Erbgang beschrieben worden sind (26). Die Disposition zur Erkrankung ist wahrscheinlich genetisch bedingt, und aus dem latenten Stadium kann sie nach einer Hepatitis oder bei einer chronischen Schädigung des Leberparenchyms, aber auch durch ein Hepatom (66, 68) manifest bzw. provoziert werden. Deshalb ist verständlich, daß die PCT bei Alkoholikern, Epileptikern und bei Patienten mit Medikamentenabusus nicht selten beobachtet wird.

Vorwiegend bei Männern nach dem 50. Lebensjahr manifestiert sich das Leiden. Der Krankheitsbeginn ist im allgemeinen schleichend, wobei eine Vermehrung der Hautpigmentierung und die Ausscheidung dunklen Urins die ersten Anzeichen sein können. Leitsymptome der PCT sind leichte Verletzbarkeit der Haut, Blasen- und Krustenbildungen, Hyper- und Depigmentierung mit und ohne Narbenbildung an lichtexponierten oder mechanisch stark belasteten Haut-

partien. Die periokuläre Hypertrichose ist ein weiteres Symptom der Erkrankung. Alle diese charakteristischen Hautveränderungen sind richtungsweisend für die Diagnose der PCT.

Die Porphyrinausscheidung im Urin bei PCT-Patienten ist stark erhöht, und zwar um das 5- bis 50-fache gegenüber den Normalwerten, während die Porphyrinvorstufen ALA und PBG nicht vermehrt sind.

Die sich bei einer manifesten PCT ergebende Verteilung der Porphyrin-Metaboliten der Urin-Porphyrine (9) ist in Abb. 2 neben den Normwerten dargestellt:

	Manifeste PCT	Normwert
	<u>relat. %</u>	<u>relat. %</u>
Uro-Porphyrine	46,0 - 77,0	31
Hepta-Porphyrine	19,0 - 30,0	5
Hexa-Porphyrine	1,2 - 8,7	3
Penta-Porphyrine	1,0 - 9,5	6
Kopro-Porphyrine	0,6 - 14,5	85

Abb. 2: Typische relative Verteilung der Porphyrin-Metaboliten bei einer manifesten PCT nach DOSS und Mitarb. (9).
Die Normwerte entstammen dem klinisch-chemischen Laboratorium der Universitäts-Hautklinik, Düsseldorf.

Bei der akuten intermittierenden Porphyrie (AIP) handelt es sich um eine genetisch determinierte Stoffwechselstörung ohne Hautveränderungen. Dieser Erkrankung liegt ein Mangel der Uroporphyrinogen-I-Synthetase sowohl in der Leber als auch in anderen Zellen, z. B. in den Erythrozyten, zugrunde (37). Durch die verminderte Umwand-

lung von PBG in Uroporphyrinogen kommt es zum Anstau und zur vermehrten Ausscheidung der Hämpräkursoren δ -Aminolävulinsäure und besonders des Porphobilinogens. Die Krankheit manifestiert sich meist zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr, wobei Frauen häufiger betroffen sind als Männer. Das klinische Bild der AIP wird von gastrointestinalen und neurologisch-psychiatrischen Symptomen geprägt. Typisch sind die anfallsweise auftretenden kolikartigen Leibschmerzen, die mit Erbrechen, Meteorismus und Obstipation einhergehen können. Die neurologischen Symptome bestehen in motorischen und sensiblen Nervenausfällen, die psychiatrischen in Verwirrtheit, Unruhe und Schlaflosigkeit. Bewußtseintrübung wechselnder Stärke kommt zuweilen auch vor. Während eines Anfalles besteht fast regelmäßig eine Tachykardie, die von Hypo- oder von Hypertonie begleitet sein kann.

Pharmaka, z. B. Barbiturate, Chloroform, Sulfonamide, Griseofulvin und verschiedene Steroidhormone - um nur einige zu nennen - können die latent vorhandene Enzymstörung durch Induktion der ALA-Synthetase zur Entgleisung bringen und damit klinisch die Manifestation der AIP herbeiführen. Auch Streßsituationen, Hunger, Gravidität, Ovulation und Menstruation kommen als auslösende Manifestationsfaktoren in Frage.

Eine Mischform mit der Symptomatik von der PCT und von der AIP stellt die ebenfalls erbliche Porphyria variegata dar. Die klinischen Symptome dieser Krankheit sind sowohl die anfallsweise auftretenden abdominellen Koliken und die neurologischen Erscheinungen der AIP als auch kutane Veränderungen wie bei der PCT. Hierbei gibt es sehr unterschiedliche Verläufe, wobei einmal die kutane, ein anderes Mal die intern-neurologische Symptomatik vorherrscht.

Der Krankheitsverlauf wird von akuten und latenten Phasen geprägt, die durch die gesteigerten Porphyrinausscheidungen charakterisiert sind, wobei allerdings eine erhöhte Porphyrinausscheidung meist nur während der akuten Krisen nachweisbar ist. Im Gegensatz zur PCT findet sich im Porphyrinausscheidungsmuster auch eine vermehrte Ausscheidung von Porphyrin-Vorstufen, wobei PBG vorherrscht. Im Urin dominiert das Koproporphyrin, während die Uro-Porphyrinurie das analytische Leitsymptom bei der PCT ist. Im Gegensatz zur AIP ist die Porphyrinausscheidung auch im Stuhl wesentlich erhöht, wobei vor allem Proto- und Koproporphyrine ausgeschieden werden.

Die hereditäre Koproporphyrrie ähnelt in ihrem klinischen Erscheinungsbild der Porphyria variegata, wenngleich nur bei 30 % der Fälle Hautveränderungen vorkommen (39). Im Ausscheidungsmuster der Porphyrine unterscheiden sich die Krankheitsbilder jedoch voneinander, und wegen der stark gesteigerten Koproporphyrin-Ausscheidung im Stuhl und Urin wird die hereditäre Koproporphyrrie als eigenständige Porphyrie abgegrenzt.

Die akuten Anfälle können in jedem Lebensalter spontan auftreten. Häufig werden sie aber durch Medikamente, insbesondere durch Barbiturate, Antikonvulsiva und Transquilizer ausgelöst. Während eines akuten Anfalls ist die Koproporphyrin-Ausscheidung im Urin immer erhöht, die aber während der klinischen Remissionsphasen auf normale Werte wieder zurückgehen kann.

3. Therapeutische Möglichkeiten bei den Porphyrien

Da bei einem Teil der Porphyrinkrankheiten (Morbus GÜNTHER, EPP, AIP und hereditärer Koproporphyrrie) ein angeborener Enzymdefekt zugrunde liegt, dieser jedoch bei anderen Formen (PCT und Porphyria variegata) wahrscheinlich ist, ist in allen Fällen bisher nur eine symptomatische Therapie möglich.

Der genetisch bedingte Enzymdefekt beim Morbus GÜNTHER (Defekt der Uroporphyrinogen-III-Cosynthetase) und die sich daraus ergebenden Folgen sind kaum beeinflussbar.

Auch Therapieversuche mit β -Carotin, Hämatin und p-Aminobenzoessäure waren völlig wirkungslos (30). Wenn eine ausgeprägte Hämolyse vorliegt, führt die Milzexstirpation vorübergehend zu einer positiven Beeinflussung dieses Symptoms (20). Das Meiden des Sonnenlichts ist bisher noch die einzig mögliche Therapie bzw. Prophylaxe. Am besten könnte die Schwere und das Fortschreiten der Hautveränderungen eingeschränkt werden, wenn es gelänge, bereits im Kindesalter regelmäßig abdeckende (Zink-) Pasten, Puder oder Make up zu verwenden (26).

Die orale Gabe von β -Carotin (41) oder einem β -Carotin-Canthaxanthin-Gemisch (18) hat sich bei der erythropoetischen Protoporphyrrie bewährt. Die durch das Carotin bedingte Gelbverfärbung der Haut wird von den Patienten meist sogar als angenehm angesehen (18).

Die therapeutische Wirkung des Carotins ist noch nicht ganz geklärt. Außer der Lichtabsorption durch den Farbstoff fangen die Carotinoide auch die durch Lichteinwirkung entstandenen Radikale ab, die bei der lichtbedingten Hämolyse der Fluorocyten von entscheidender Bedeutung sind (58).

Die Behandlung der akuten intermittierenden Porphyrrie während eines Schubes beschränkt sich weitgehend auf die symptomatische Anwendung von Phenothiazininfusionen und morphinhaltigen Analgetika (13, 64). Ein Glukosemangel stimuliert die Aktivität der ALA-Synthetase, und umgekehrt hemmt Glukosezufuhr dieses Enzym (sog. "Glukose-Effekt"). Therapieversuche mit Glukose bei der AIP haben zwar enttäuscht, jedoch sollten AIP-Patienten sich vor einer Hypoglykämie hüten (10). Die Prognose ist ernst, da jeder Schub - nicht selten sogar der erste - tödlich sein kann. Daher ist es wichtig, die Merkmalsträger dieser Erkrankung im Latenzstadium zu erfassen, damit man sie über die Gefahr von Provokationsfaktoren (z. B. Medikamente, Alkohol, Hunger) aufklären kann.

Eine wichtige Grundlage der Behandlung einer PCT besteht in dem Versuch, Lebernoxen - in erster Linie Alkohol und Medikamente (Analgetika, Schlafmittel) - auszuschalten. Erfolgreich hat sich in den letzten 15 Jahren die von IPPEN (25, 26) inaugurierte Aderlaß-Therapie durchgesetzt, die zur Normalisierung der Porphyrinausscheidung im Urin und zur Beseitigung der Hautsymptome führt. Die Eliminierung von Eisen aus dem Organismus dürfte hierbei als das wirksame Prinzip anzusehen sein. Aber auch diese Therapie ist nur symptomatisch, da sich bei den meisten PCT-Patienten nach dem Abklingen der Hautsymptomatik und der Normalisierung der Porphyrinausscheidung nach Jahren nicht selten ein Rezidiv einstellt (26).

In letzter Zeit wurde auch immer wieder nach geeigneten medikamentösen Therapiemöglichkeiten für die PCT gesucht, weil die Aderlaß-Behandlung mit gewissen Umständen verbunden ist. Es wurden Therapieversuche mit Uralyt-U,

Pyridoxalphosphat und Desferral^R durchgeführt, die jedoch häufig nicht den gewünschten Erfolg hatten. Die Chloroquin-Therapie (Resochin^R) - zweimal 125 mg pro Woche (32) - stellt bereits eine wirksame Behandlung für die PCT dar (17, 19), wobei der Angriffspunkt dieser Therapie jedoch noch nicht endgültig geklärt ist. Es muß noch offen gelassen werden, ob bei der PCT eine Therapie mit Resochin^R oder vielleicht auch die in jüngster Zeit mit Erfolg angewandte Behandlungsmethode mit p-Aminobenzoesäure (Potaba^R) (16) zu besseren Ergebnissen führen als die bewährte Aderlaß-Therapie.

4. Experimentelle Porphyrien unter besonderer Berücksichtigung des Porphyrogens Hexachlorbenzol (HCB)

STOKVIS (62) beobachtete bereits im Jahre 1889 einen Patienten, der nach Einnahme von Sulfonal roten Urin ausschied und anschließend an "neurologischen Dysfunktionen" verstarb. Dieser Befund scheint der erste Hinweis dafür zu sein, daß Porphyrien exogen durch chemische Substanzen auslösbar sind. STOKVIS erzeugte auch die erste tierexperimentelle Porphyrie durch Sulfonal bei Kaninchen und Hunden (63). FISCHER und DUESBERG (15) wiesen später nach, daß ätherunlösliche Porphyrine im Urin der Kaninchen nach der Sulfonal-Applikation die Verfärbung des Urins hervorrufen.

Experimentell erzeugte Porphyrien an Versuchstieren haben später zu wesentlichen Erkenntnissen über die Physiologie und Pathologie der Porphyrinbiosynthese geführt.

1952 gelang es SCHWARTZ et al. (60), beim Kaninchen nach Behandlung mit Phenylhydrazin, Blei und UV-Licht eine erythropoetische Porphyrie zu erzeugen, die der *Porphyria congenita erythropoetica* (Morbus GÜNTHER) beim Menschen sehr ähnlich ist. Die so behandelten Tiere schieden große Mengen Uroporphyrin im Urin aus; im Knochenmark fanden sich erhöhte Werte von Uro- und Koproporphyrinen, während die Leberporphyrinwerte normal blieben. Im Gegensatz zum Morbus GÜNTHER beim Menschen schieden die Kaninchen allerdings auch größere Mengen von Porphyrinvorstufen, nämlich Porphobilinogen, aus.

Die bekanntesten chemischen Verbindungen, die beim Versuchstier eine hepatische Porphyrie auslösen, sind AIA (2-Allyl-2-Isopropylacetamid) und Sedormid (Allyl-isopropyl-acetyl-Harnstoff), Griseofulvin, DDC (Dicarbaethoxy-dihydro-collidin) und HCB (Hexachlorbenzol). Es ist weitgehend gesichert, daß diese Verbindungen direkt oder indirekt eine Induktion der hepatischen ALA-Synthetase bewirken (67). Die verschiedenen Porphyrogene führen - abgesehen von Speziesunterschieden - jedoch nicht zu einheitlichen Porphyrinbiosynthese-Störungen, da sie unterschiedliche Angriffspunkte (nicht an der ALA-Synthetase) haben. Die tierexperimentellen Porphyrien, die durch AIA induziert werden, erinnern an die akute intermittierende Porphyrie (AIP), wobei die auftretende Porphyrie der AIA-behandelten Ratten von einer Leberzellhypertrophie (36, 44) begleitet ist. Die durch Griseofulvin und DDC erzeugten Porphyrien ähneln erythropoetischen Porphyrien und die durch HCB hervorgerufenen an eine *Porphyria cutanea tarda*.

Sedormid induziert bei Kaninchen eine hepatische Porphyrie (54, 55) und kann nach Einnahme großer Mengen auch

beim Menschen eine Porphyrie auslösen (11).

Eine besondere Bedeutung hat das Porphyrogen HCB dadurch erlangt, daß in den Jahren 1955 - 1956 in verschiedenen Provinzen der Türkei Tausende von Porphyrikerkrankungen, besonders unter der Landbevölkerung, bekannt wurden. Diese "Porphyria turcica" war dem Krankheitsbild der PCT sehr ähnlich. Die ersten klinischen Symptome bestanden häufig in Komedonen, die in den Ohren und perioculär unter Betonung der lateralen Anteile auftraten, ähnlich wie beim FAVRE-RACOUCHOT Syndrom. An der lichtexponierten Haut bildeten sich im weiteren Verlauf der Erkrankung mit klarer Flüssigkeit gefüllte Blasen von 0,2 bis 1 cm Durchmesser, die nach Zerstörung der Blasendecke verkrusteten und schließlich narbig abheilten. Hypertrichose um die Augen, am Kinn und Rumpf waren ebenso Krankheitszeichen wie Corneatrübung, Atrophie und Bewegungseinschränkung der Finger. Bei der Allgemeinuntersuchung wurden schmerzhafte Leberschwellung, Skelettmuskelschwund, Gewichtsverlust und erhöhte Temperaturen festgestellt (5, 53). Im Urin der Erkrankten war die Porphyrinausscheidung stark erhöht; dieser war dunkel verfärbt und fluoreszierte intensiv rot im UV-Licht.

CAM (5) entdeckte als Ursache dieser Porphyrie-Epidemie das Hexachlorbenzol (HCB). Das HCB wurde in Form des Chlorobel^R und Surmesan^R als Fungicid dem Saatweizen zugesetzt. Als 1955 die Weizenlieferungen ausblieben, benutzte die Landbevölkerung den mit HCB behandelten Saatweizen zur Ernährung. Wahrscheinlich verzehrte ein großer Teil der später Erkrankten mit dem Brot längere Zeit 0,05 bis 0,2 g HCB pro Tag, bevor die ersten Krankheitsfälle im Herbst 1955 auftraten (5).

Nach diesen Berichten aus der Türkei zeigten DE MATTEIS (42) sowie OCKNER und SCHMIDT (45), daß das HCB auch bei Ratten und Kaninchen eine Porphyrie erzeugt.

Bei den Ratten, deren Futter 0,2 % HCB enthielt, trat nach wenigen Tagen ein Gewichtsverlust auf (30, 47). Einige Wochen später zeigten die Harnporphyrine sowie ALA und PBG höhere Werte (42, 45, 47, 51). Darüber hinaus war bei den Versuchstieren an den Schneidezähnen und im Gastrointestinaltrakt eine deutliche Fluoreszenz im Wood-Licht erkennbar (47).

In Versuchen mit gleichzeitiger UV-Bestrahlung der Ratten, denen eine etwa 25 cm² große Rückenfläche rasiert wurde, starben die meisten Tiere nach 3 bis 14 Tagen (48). Ohne Rasur und Bestrahlung starben etwa 33 % der Versuchstiere im ersten Monat, nachdem vorher Tremor, Ataxie, Schwäche, Paralyse und Hepatomegalie aufgetreten waren (45, 47).

Bei den Kaninchen kam es zu einer erhöhten Ausscheidung von Uro- und Koproporphyrinen im Urin nach 6 Wochen, unter kontinuierlicher Verabreichung von HCB. Die Porphyrinvorstufen ALA und PBG waren im Gegensatz zu den Befunden bei Ratten nicht vermehrt. Aufgrund dieser Befunde ist die HCB-Porphyrie beim Kaninchen wahrscheinlich das beste tierexperimentelle Modell für die menschliche Porphyria cutanea tarda (42, 67). Die biochemischen Stoffwechseleränderungen, die durch HCB beim Kaninchen erzeugt werden, sind also ähnlich den biochemischen Untersuchungsbefunden, die bei der natürlich vorkommenden PCT beim Menschen auftreten. Allerdings werden beim Kaninchen auch neurotoxische Symptome beobachtet, die weder bei der "Porphyria turcica" noch bei der Porphyria cutanea tarda vorkommen.

II. Problemstellung

Die DDC- und/oder AIA-induzierte Porphyrie bei Ratten läßt sich nach den Untersuchungen von PIPER und TEPHLY (49, 65) durch PABA (p-Aminobenzoesäure) wieder aufheben.

1. Es wurde untersucht, ob PABA auch die HCB-Porphyrie der Ratte verhindern kann.
Zusätzlich wurde untersucht, ob das Häm-Enzym Katalase durch PABA beeinflußt wird.
2. Es wurden bei Patienten mit einer manifesten Porphyria cutanea tarda (PCT) und bei Kontrollpersonen der Glycinspiegel im Serum, der Glutathiongehalt im Blut und die Katalase in den Erythrozyten bestimmt. Der unterschiedliche Einfluß der Aderlaß- und Resochin^R-Therapie bei den PCT-Patienten auf diese Parameter sollte dabei untersucht werden.
3. Es wurde darüber hinaus bei einer PCT-Patientin die Korrelation zwischen der Porphyrinausscheidung, dem Glycin-Spiegel im Serum und der Erythrozyten-Katalase unter der Therapie mit p-Aminobenzoesäure (Potaba^R) untersucht.

III. Materialien und Methoden

1. Materialien

1.1. Haltung und Behandlung der Versuchstiere

90 weibliche Wistar-Ratten mit 120 bis 150 g Körpergewicht erhielten 0,05 % HCB-haltiges Futter (Hexachlorbenzol: 98 % rein, Fa. Merck-Schuchardt, München; Futter: Standarddiät, Fa. Altromin, Lage/Lippe) sowie Wasser ad libitum. Die Kontrollgruppen wurden mit Ausnahme der HCB-Applikation in gleicher Weise gehalten.

Am 2., 4., 6., 14., 21., 28., 35., 42., 48., 51., 54., 57. und 60. Versuchstag wurden jeweils vier Ratten einer Versuchsgruppe einzeln für 24 Stunden in einen Stoffwechselkäfig gesetzt und so der Urin und der Kot getrennt gesammelt. Anschließend wurden die Tiere durch Dekapitieren getötet und in dem Homogenat der Leber die Katalase-Aktivität gemessen.

Nach dem 60. Versuchstag manifestierte sich bei allen Tieren eine Porphyrie. Daraufhin wurden zwei Gruppen gebildet. Gruppe 1 (HCB-Tiere) erhielt weiterhin HCB-Futter; Gruppe 2 (HCB-Potaba-Tiere) wurde neben dem HCB-Futter 1 g p-Aminobenzoat pro kg Körpergewicht und Tag in Form von Potaba^R mit der Schlundsonde zugeführt. Auch die Kontrolltiere wurden in zwei Gruppen unterteilt. Gruppe 3 (Kontrolltiere) bildete die eigentlichen Kontrollen (Normalfutter), während Gruppe 4 (Potaba-Kontrolle) p-Aminobenzoesäure in der angegebenen Dosierung erhielt.

Es bestanden somit vier Versuchsgruppen nebeneinander:

Gruppe 1	HCB-Tiere:	HCB-Futter
Gruppe 2	HCB-Potaba-Tiere:	HCB-Futter + Potaba
Gruppe 3	Kontroll-Tiere:	Normalfutter
Gruppe 4	Potaba-Tiere:	Normalfutter + Potaba

In dreitägigen Intervallen wurden jeweils vier Tiere einer Versuchsgruppe getötet. Aus den Leberhomogenaten wurde die Aktivität der Katalase bestimmt, nachdem am Vortag der Urin zur Porphyrinbestimmung aufgefangen worden war.

1.2. PCT-Patienten mit unterschiedlichen Therapie-Maßnahmen

Bei den PCT-Patienten wurde im venösen Blut Glutathion, im Serum Glycin und in den Erythrozyten die Katalase bestimmt.

1.2.1. PCT-Patienten mit Aderlaß-Behandlung

Hierbei handelte es sich um Patienten, bei denen die Aderlaß-Therapie nach IPPEN (25, 26) angewandt wurde.

1.2.2. PCT-Patienten mit Resochin^R-Therapie

In Anlehnung an KORDAC und SEMRADOVA (32) wurden diesen Patienten zweimal pro Woche 125 mg Chloroquin (Resochin^R) verabreicht.

1.2.3. PCT-Patient mit Potaba^R-Behandlung

Nach der von GOERZ und Mitarb. (16) beschriebenen Behandlungsmethode mit p-Aminobenzoat wurden einer Patientin dreimal 4 g Potaba^R pro Tag verabreicht.

1.3. Kontroll-Personen

Als Kontrollen dienten sowohl Blutspender⁺⁾ als auch klinisch gesunde Mitarbeiter der Universitäts-Hautklinik Düsseldorf.

2. Methoden

2.1. Porphyrinbestimmung im Urin

Die quantitative Porphyrinbestimmung aus dem Urin der Versuchstiere erfolgte nach der Standardmethode von DOSS und SCHMIDT (8) mit Hilfe der Anionenaustauschersäulen der Firma Bio-Rad.

2.2. Porphobilinogen- und ALA-Bestimmung

Porphobilinogen (PBG) und δ -Aminolävulinsäure (ALA) aus dem Urin der Versuchstiere wurden nach der Standardmethode der Firma Bio-Rad in Anlehnung an DOSS und SCHMIDT (8) bestimmt.

⁺⁾ Herrn Prof. Dr. H. Brüster, Direktor des Institutes für Blutgerinnungswesen und Transfusionsmedizin, Düsseldorf, danke ich für die Überlassung der Blutproben.

2.3. Herstellung des Leberhomogenates

Den dekapitierten Ratten wurde sofort die Leber entnommen und das Feuchtgewicht bestimmt. Danach wurden die Lebern mit 0,01 M Trispuffer, pH 7,6 gewaschen und mit der gleichen Pufferlösung im Potter-Elvehjem Homogenisator aufgearbeitet. 5 ml des Homogenates wurden 15 Min. bei 4° C mit 3000 g/min zentrifugiert (Kühlzentrifuge Model J-21, Fa. Beckman). 1 ml des Überstandes wurde mit Phosphatpuffer (0,01 M, pH 7,0) auf 50 ml aufgefüllt und zur Katalasebestimmung eingesetzt. Aus dem gleichen Verdünnungsansatz erfolgte noch die Proteinbestimmung nach LOWRY (37).

2.4. Herstellung des Bluthämolysates

5 ml Liquemin-Blut wurden den Versuchspersonen entnommen. Diese Blutprobe wurde bei 4° C 10 Minuten bei 1300 g/min zentrifugiert. Nach dem Abheben des Plasma wurden die Erythrozyten in 5 ml kalter physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und anschließend 20 Minuten bei 3000 g/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgesaugt, das Waschen der Erythrozyten dreimal wiederholt.

1 ml der Erythrozyten-Suspension wurde mit 20 ml Aqua dest. (4° C) hämolysiert, von diesem Hämolysat 1 ml mit Phosphatpuffer (0,01 M, pH 7,0) auf 50 ml aufgefüllt und zur Katalasebestimmung eingesetzt.

2.5. Bestimmung der Katalase-Aktivität

Die Katalaseaktivität wurde nach der kolorimetrischen Methode von A.K. SINHA (61) bestimmt.

Das Prinzip dieser Methode beruht darauf, daß Kaliumdichromat in Essigsäure in Gegenwart von H_2O_2 beim Erwär-

men mit einem Farbumschlag zu Chromazetat reduziert wird (grüne Farbe). Photometrisch wird das so gebildete Chromazetat bei 570 nm bestimmt.

Die Katalase spaltet je nach ihrer Aktivität pro Zeiteinheit eine bestimmte Menge Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2) in Sauerstoff O und Wasser H_2O auf. Durch Zugabe von Kaliumdichromat wird diese Enzymaktivität jedoch sofort gestoppt. Aufgrund der Farbentwicklung des Chromazetates kann das von der Katalase nicht umgesetzte Wasserstoffsuperoxyd nach Erwärmen photometrisch bestimmt werden.

Reagenzien:

Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2) 30 %

Phosphatpuffer 0,01 M, pH 7,0

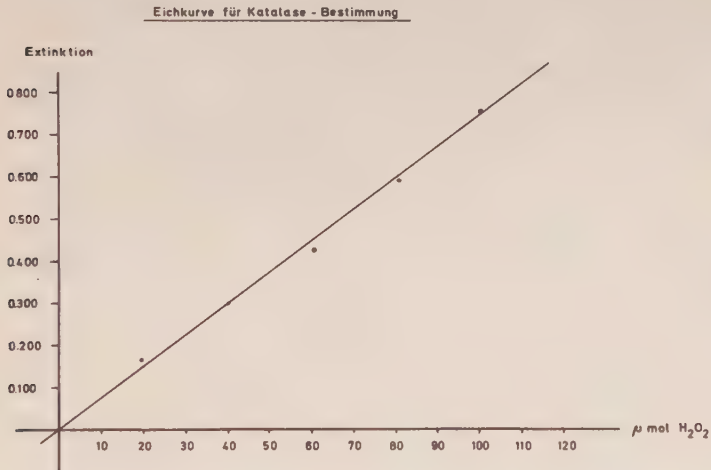
Kaliumdichromatlösung ($K_2Cr_2O_7$) 5 %

Im Erlenmeyer-Kolben werden 5 ml Phosphatpuffer und 4 ml H_2O_2 gemischt. Zu diesem Ansatz wird 1 ml der vorbereiteten Enzymlösung (Leberhomogenat bzw. Bluthämolysat) gegeben. Nach jeweils einer Minute wird von dieser Lösung je 1 ml mit der Kaliumdichromatlösung vermischt. Anschließend werden die Proben zehn Minuten im Wasserbad gekocht und nach Abkühlen auf Zimmertemperatur die Extinktionen der Lösungen bei 570 nm (10 mm Küvette) im Photometer bestimmt.

Auswertung der Meßergebnisse

Mit Hilfe einer Eichkurve (Abb. 3) kann das von der Katalase nicht gespaltene Wasserstoffsuperoxyd ermittelt werden. Es wurden unterschiedliche H_2O_2 -Mengen zu 2 ml Kaliumdichromat gegeben und nach Entwicklung der Farbreaktionen die Extinktionen bei 570 nm im Photometer bestimmt.

Abb. 3:



Unterschiedliche H_2O_2 -Mengen (von 10 bis 120 μmol) werden zu 2 ml Kaliumdichromatlösung gegeben. Die Farbintensität des entstandenen Chromazetates wird bei 570 nm in 10 mm Küvetten photometrisch bestimmt. Es ergibt sich eine lineare Korrelation zwischen den Extinktionen und den H_2O_2 -Mengen.

Die Katalase-Reaktion (K) läuft nach folgender Gleichung ab:

$$K = \frac{1}{t} \times \log \frac{S_0}{S} \quad (61)$$

S_0 = Ausgangsmenge von H_2O_2 (in μmol)

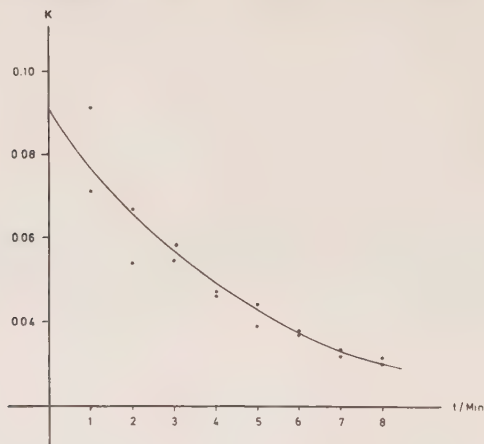
S = Menge von H_2O_2 (in μmol) zur Zeit t

t = Zeit in Minuten

Die K-Werte werden über insgesamt acht Minuten für jede Minute des Reaktionsablaufes einzeln berechnet. Die Ergebnisse werden dann in ein Koordinatenkreuz (Ordinate: K-Werte; Abszisse: Zeit in Minuten) übertragen. Durch Extrapolation der Kurve wird der Wert K_0 für die Zeit $t = 0$ ermittelt (Abb. 4). Die Katalaseaktivität der Enzymverdünnung wird in "Katalase-Fähigkeit" oder "Kat-F" ausgedrückt (12) und nach folgender Formel berechnet (61):

$$\text{Kat-F} = \frac{K_0}{\text{mg Protein/ml}}$$

Abb. 4: Beispiel einer Kurve zur Ermittlung des K_0 -Wertes.



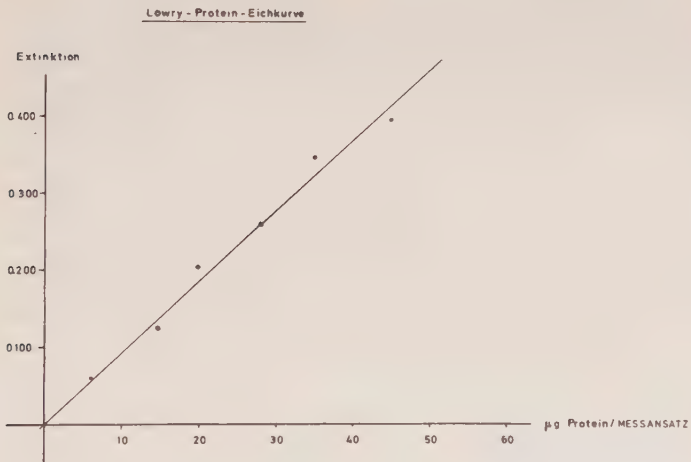
Die errechneten K-Werte für die jeweilige Zeit t werden in das Koordinatenkreuz übertragen. Aus der Kurve wird der K_0 -Wert für die Zeit $t = 0$ durch Extrapolation ermittelt.

2.6. Proteinbestimmung

Die Proteinbestimmung zur Berechnung der Katalase-Fähigkeit (Kat-F) wurde nach der Standardmethode von LOWRY (37) durchgeführt.

Der Proteingehalt der Enzymlösungen (Leberhomogenat bzw. Bluthämolysat) in mg pro ml resultiert aus der gemessenen Extinktion, die mit dem Faktor aus der vorher erstellten Eichkurve (Abb. 5) multipliziert wird, und der entsprechenden Umrechnung.

Abb. 5:



Aus einer frisch bereiteten Stammlösung, bestehend aus Rinder-Serum-Albumin, werden verschiedene Mengen (bis 50 μg) als Meßansatz gewählt und die Extinktionen bei 578 nm bestimmt. Es ergibt sich eine lineare Korrelation zwischen den Proteinkonzentrationen und den Extinktionen.

2.7. Glycinbestimmung

Die Glycinbestimmung aus dem Blutserum erfolgte nach der photometrischen Methode von GOODWIN und STAMP-WALA (21).

Materialien und Reagenzien:

Chloramin-T (61 g pro 100 ml) (Fa. Merck, Darmstadt)

Natriumwolframsäure (10 g pro 100 ml) (")

Chromotropisches Säurereagenz:

Zu 150 ml eisgekühltem Aqua dest. werden 300 ml konzentrierte Schwefelsäure gegeben. Dazu kommt ein Filtrat, das aus 1 g 4,5-Dihydroxy-2,7-disulfonsäure, gelöst in 100 ml Aqua dest., besteht.

Glycin-Standard (0,1 M)

Dowex 50 W-X 2 Kationenaustauscherharz 50-100 mesh, H⁺ Form: 2 g Dowex 50 W-X 2 werden in 100 ml Aqua dest. suspendiert und anschließend in Chromatographie-Säulen (10 x 100 mm) gegeben. Die Säulen werden mit Aqua dest. gewaschen, danach mit 10 ml NaOH (10 M) beschickt und solange mit Aqua dest. gespült, bis sie NaOH-frei sind. Anschließend werden in die Säulen 15 ml HCl (8 M) gegeben und diese ebenfalls solange mit Aqua dest. gespült, bis sie HCl-frei sind.

0,5 ml Blutserum werden mit 4 ml Schwefelsäure (0,1 M) und 0,5 ml Natriumwolframsäure gemischt und zentrifugiert. 4 ml des Überstandes werden abgehoben und auf die Dowex-Säule gegeben. Mit 15 ml Aqua dest. werden die übrigen Bestandteile anschließend aus der Säule entfernt. Das freie Glycin wird aus der Säule mit 15 ml Ammoniumhydroxyd (NH₄OH) (4 M) eluiert und im Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wird danach in 4 ml Chloramin-T

und 0,2 ml Schwefelsäure vermischt und anschließend 10 Minuten lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur werden 0,5 ml dieser Lösung mit 4,5 ml chromotropischem Säurereagenz vermischt, 10 Minuten lang in ein kochendes Wasserbad gegeben und auf Zimmertemperatur abgekühlt.

Die Extinktionsmessung erfolgt in 10 mm Küvetten bei 470 nm gegen Aqua dest. als Leerwert.

Aus der vorher ermittelten Glycin-Eichkurve wurde der Faktor errechnet, der für die Umrechnung erforderlich ist.

2.8. Glutathionbestimmung

Die Glutathionkonzentration im Blut der Versuchspersonen wurde nach der Methode von PATTERSON und LAZAROW (46) bestimmt.

Reagenzien:

25 %ige Metaphosphorsäure als Stammlösung

5 %ige Metaphosphorsäure als Arbeitslösung

0,1 M Alloxan-Lösung

0,5 M äquivalente NaOH-Lösung:

10 ml hiervon sind gleichwertig einem Gemisch, das aus 10 ml 5 %iger Metaphosphorsäure und 10 ml 0,1 M Alloxan-Lösung besteht. Dieses Gemisch wird mit NaOH titriert, bis der pH-Wert 7,5 eingestellt ist.

0,5 M Phosphat-Puffer pH 7,5

1 N NaOH-Lösung

Glutathion-Standard: 50 µg/ml

1 ml Oxalat-Blut wird mit 7 ml Aqua dest. vollständig hämolysiert. Dann werden 2 ml 25 %ige Metaphosphorsäure hinzugegeben, und nach dem Mischen wird diese Lösung zentrifugiert.

Die Extinktionsmessung erfolgt in 10 mm Küvetten bei 305 nm. Der Glutathiongehalt wird in mg pro 100 ml Blut angegeben.

IV. Ergebnisse und Diskussion

1. Vorversuche

Die meisten Blut- und Leberproben wurden nach entsprechender Vorbehandlung eingefroren, bevor die Enzymaktivitäten bestimmt wurden. Eine Beeinträchtigung der Katalaseaktivität durch das Einfrieren und Abtauen wurde nicht festgestellt.

In Vorversuchen wurde das Leberhomogenat mit Phosphatpuffer pH 7,0 unterschiedlich stark verdünnt, und zwar im Verhältnis 1 : 33, 1 : 50 und 1 : 100. Bei allen Verdünnungsreihen zeigte die Katalase nach entsprechender Umrechnung die gleiche Aktivität. Deshalb wurde für alle Messungen die Verdünnung 1 : 50 gewählt.

Die Enzymreaktionen wurden bei 24° C bestimmt. Beim Ablauf der Reaktion bei 15° C sank die Enzymaktivität um etwa die Hälfte im Vergleich zu den bei Zimmertemperatur gemessenen Werten ab. Bei 0° C war keine Aktivität mehr nachweisbar.

2. Untersuchungsergebnisse des Tierexperimentes

Die Gesamtporphyrin-Ausscheidung der mit HCB behandelten Ratten bleibt während der ersten 45 Versuchstage im Normbereich, wie aus Abb. 6 (S. 34) hervorgeht. Danach wird bei diesen HCB-Tieren die Porphyrie - gemessen an einer zunächst relativ geringfügigen, später aber stark ansteigenden Porphyrinausscheidung im Urin - manifest (Tab. 1).

Tabelle 1:

Ausscheidungen der Porphyrine, des ALA und PBG in $\mu\text{g}/\text{Tag}$ im Urin der HCB- und Kontrolltiere am 48. Versuchstag:

	N	Gesamt-Porphyrine	ALA	PBG
Kontroll-Tiere	4	$3,1 \pm 1,5$	$40,5 \pm 15,6$	$17,6 \pm 6,2$
HCB-Tiere	4	$23,4 \pm 19,9$	$67,5 \pm 16,7$	$28,6 \pm 9,2$

Die Porphyrine wurden nach der Standard-Methode von DOSS und SCHMIDT (8) bestimmt; die ALA- und PBG-Bestimmungen erfolgten nach den Standard-Methoden der Firma Bio-Rad.
Die Werte ergeben sich aus jeweils vier Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

Etwa am 54. Versuchstag kommt es zu einem massiven Anstieg der Ausscheidungen der Gesamtporphyrine im Urin bei den HCB-Tieren auf das 20-fache gegenüber den Normwerten. Bis zum Versuchsende (80. Tag) bleiben die stark pathologischen Urinporphyrine dieser Tiergruppe unverändert (Abb. 6, S. 34).

Die HCB-Potaba-Tiere, die vom 60. Versuchstag an zusätzlich mit p-Aminobenzoesäure (PABA) behandelt worden waren, zeigten für eine geringe Zeit ein Absinken der Porphyrinausscheidung, ohne daß dabei der Normbereich auch nur annähernd erreicht wurde. Trotz der PABA-Therapie blieben die Porphyrinausscheidungen der HCB-Potaba-Tiere pathologisch und erlangten vom 72. Versuchstag an wieder die Werte der HCB-Kontrolltiere (Abb. 6, S. 34). Auch für die Porphyrinvorstufen ALA und PBG wurden bei den HCB-Tieren nach der Manifestation der Porphyrie aus-

schließlich erhöhte Werte im Urin gemessen (Abb. 7 und 8, S. 35).

Im Gegensatz dazu kommt es unter der HCB-Potaba-Applikation zu einer deutlichen passageren Steigerung der Porphyrinvorstufen ALA und PBG (Abb. 7 und 8, S. 35).

Am 75. Versuchstag ergibt sich für die einzelnen Versuchsgruppen hinsichtlich der Porphyrin-, ALA- und PBG-Ausscheidungen folgendes Bild (Tab. 2):

Tabelle 2:

Ausscheidungen von Porphyrinen, ALA und PBG in $\mu\text{g}/\text{Tag}$ aus dem Urin der HCB-, Kontroll-, HCB-Potaba- und Potaba-Tiere am 75. Versuchstag:

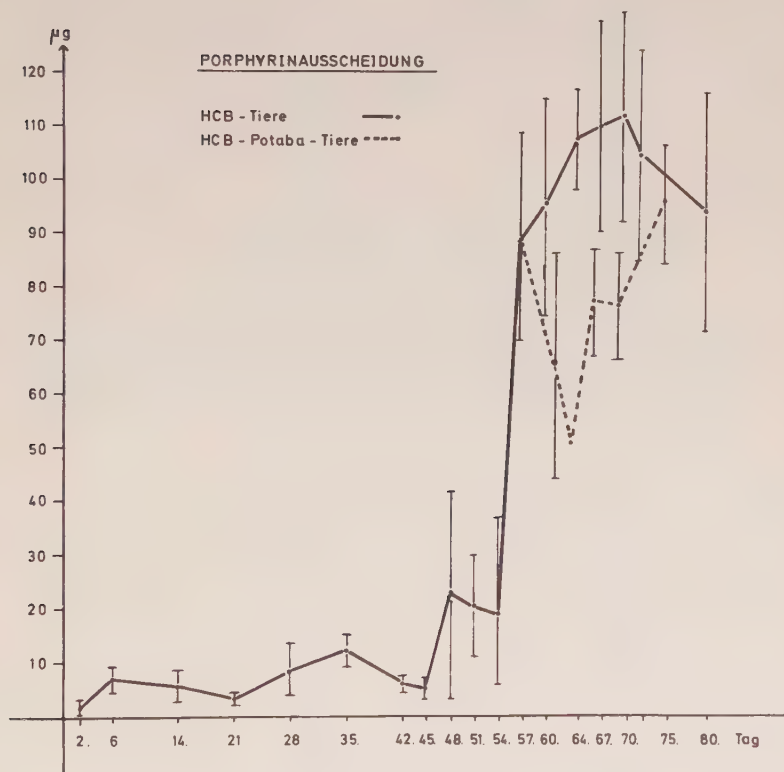
	N	Gesamt Porphyrine	ALA	PBG
Kontroll-Tiere	2	$4,5 \pm 0,5$	$44,0 \pm 46,0$	$3,2 \pm 8,4$
HCB-Tiere	4	$114,4 \pm 38,8$	$243,0 \pm 193,0$	$361,0 \pm 232,0$
HCB-Potaba-Tiere	2	$96,6 \pm 27,4$	$438,0 \pm 148,0$	$938,5 \pm 67,1$
Potaba-Tiere	6	$4,0 \pm 2,2$	$58,5 \pm 10,1$	- - -

Die Porphyrine wurden nach der Standard-Methode von DOSS und SCHMIDT (8) bestimmt; die ALA- und PBG-Bestimmungen erfolgten nach den Standard-Methoden der Firma Bio-Rad. Die Werte ergeben sich aus der bei N angegebenen Anzahl von Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

- a) Bei den HCB-Tieren wurde eine stark erhöhte Ausscheidung der Gesamt-Porphyrine und der Porphyrin-Präkursoren ALA und PBG im Vergleich zu den Normaltieren gemessen, während

- b) bei den HCB-Potaba-Tieren gegenüber den HCB-Tieren ein leicht erniedrigter Gesamt-Porphyrinwert, aber eine deutliche Vermehrung der Porphyrin-Präkursoren ALA und PBG im Urin festgestellt wurde.
- c) Die Ausscheidungswerte der Gesamt-Porphyrine und der Porphyrin-Vorstufen zeigen keine Unterschiede bei den Kontroll- und Potaba-Tieren.

Abb. 6: Verhalten der Gesamt-Porphyrine unter der Behandlung mit Hexachlorbenzol (HCB) und p-Aminobenzoat (PABA).



Vergleich der Gesamt-Porphyrin-Ausscheidung in $\mu\text{g}/\text{Tag}$ von jeweils vier Versuchstieren als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) von HCB- und HCB-Potaba-behandelten weiblichen Wistar-Ratten.

Abb. 7: Verhalten der β -Aminolävulinsäure (ALA) unter der Behandlung mit Hexachlorbenzol (HCB) und p-Aminobenzoat (PABA).

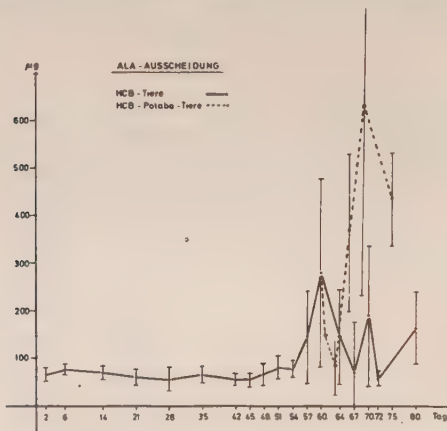
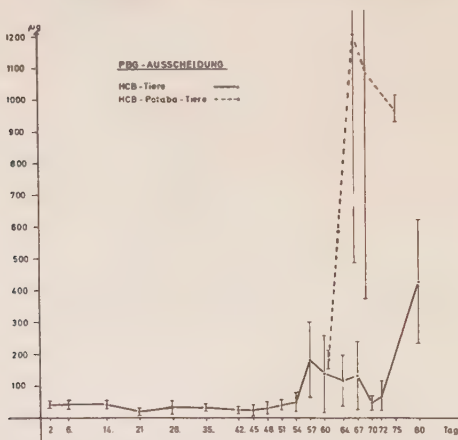


Abb. 8: Verhalten des Porphobilinogens (PBG) unter der Behandlung mit Hexachlorbenzol (HCB) und p-Aminobenzoat (PABA).



ALA und PBG im Urin der weiblichen Wistar-Ratten wurden bei den HCB-Tieren vom Versuchsbeginn bis zum 80. und bei den HCB-Potaba-Tieren vom 60. Versuchstag an nach den Standardmethoden der Firma Bio-Rad bestimmt. Die Werte ergeben sich aus jeweils vier Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

Die Aktivität der Katalase in der Leber verändert sich unter dem Einfluß von Hexachlorbenzol (HCB) nicht. Dies gilt sowohl für den 48. als auch für den 70. Versuchstag (Tab. 3). Auch bei Berücksichtigung der unterschiedlichen Lebergewichte ergeben sich keine Verschiebungen.

Allerdings zeigen die Kat-F-Werte von den Lebern der HCB-Tiere zu denen der Kontroll-Tiere am 70. Versuchstag eine leichte Abnahme gegenüber den Werten des 48. Versuchstages (Tab. 3).

Die Kat-F-Werte der Kontroll- und Potaba-Gruppen zeigen am 70. Versuchstag keinen signifikanten Unterschied (Tab. 3). Damit dürfte p-Aminobenzoat (PABA) keinen Einfluß auf die Aktivität der Leberkatalase bei Ratten haben. Auch bei den mit HCB vorbehandelten Ratten bleibt PABA ohne Einfluß auf die Aktivität der Leberkatalase.

Tabelle 3:

Katalase-Fähigkeit (Kat-F) aus dem Leberhomogenat weiblicher Wistar-Ratten am 48. und 70. Versuchstag unter HCB- bzw. PABA-Behandlung.

	N	48. Versuchstag	N	70. Versuchstag
Kontroll-Tiere	4	192,3 $\pm$ 37,6	4	185,5 $\pm$ 69,7
HCB-Tiere	4	176,7 $\pm$ 72,6	4	165,0 $\pm$ 34,1
HCB-Potaba-Tiere	4	- - -	4	162,2 $\pm$ 55,8
Potaba-Tiere	4	- - -	4	179,0 $\pm$ 44,3

Für die Kontroll- und HCB-Tiere sind die Werte vom 48. und 70. Versuchstag, für die HCB-Potaba- und Potaba-Tiere am 10. Tag der Behandlung (70. Versuchstag) mit PABA (Potaba^R) dargestellt.

Die Kat-F-Werte wurden nach der Bestimmungsmethode von A.K. SINHA (61) aus jeweils vier Einzelmessungen ermittelt und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) abgebildet.

Zusammenfassend zeigen die Tierversuche, daß bei der Ratte die HCB-Porphyrurie durch PABA-Gaben nicht beeinflußt wird. Nach Manifestation der HCB-Porphyrurie wurde den Ratten p-Aminobenzoesäure (PABA) (1 g pro kg/Tag) in Form von Potaba^R appliziert. Die pathologische Porphyrinausscheidung ließ sich dadurch jedoch nicht beseitigen, wenngleich ein Rückgang der Urin-Porphyrine - allerdings nur passager - zu verzeichnen war (Abb. 6, S. 34).

Die Aktivität der Leberkatalase wird bei den Ratten weder durch HCB noch durch PABA und der HCB- und PABA-Kombination nennenswert verändert. Diese Beobachtung deckt sich mit den Befunden von OCKNER und SCHMIDT (45),

die ebenfalls keine signifikante Veränderung der Leberkatalase bei HCB-behandelten Ratten fanden. Unter der PABA-Therapie kommt es aber bei den HCB-Ratten zu einer massiven Steigerung der Ausscheidungen der Porphyrin-Vorstufen ALA und PBG (Tab. 7 und 8, S. 35).

Dieser Befund muß allerdings noch durch ein größeres Kollektiv von Versuchstieren genauer untersucht und abgeklärt werden.

3. Ergebnisse der Blutuntersuchungen bei den PCT-Patienten und Kontroll-Personen

3.1. Befunde bei den Kontroll-Personen

Die gemessenen Kat-F-, Glycin- und Glutathionwerte der Kontroll-Personen sind in Tab. 4 getrennt nach dem Geschlecht und in Tab. 5 nach dem Alter (über oder unter 30 Jahre) aufgeführt.

Mit dem Student-T-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Parametern der jeweiligen Gruppen festgestellt werden.

Tabelle 4:

Kat-F-, Glycin- und Glutathionwerte der Kontroll-Personen, unterteilt nach Geschlechtszugehörigkeit:

	N	Männer	N	Frauen
Kat-F	19	225,60 $\pm$ 57,00	18	222,70 $\pm$ 71,40
Glycin	14	5,29 $\pm$ 1,74	40	5,28 $\pm$ 1,52
Glutathion	14	32,16 $\pm$ 4,40	42	33,39 $\pm$ 5,09

Tabelle 5:

Kat-F-, Glycin- und Glutathionwerte der Kontroll-Personen, unterteilt nach einer Altersgrenze über oder unter 30 Jahre:

	N	>30 Jahre	N	< 30 Jahre
Kat-F	18	216,50 $\pm$ 50,86	19	228,20 $\pm$ 74,27
Glycin	19	5,45 $\pm$ 1,46	19	5,82 $\pm$ 1,28
Glutathion	20	34,29 $\pm$ 5,28	19	33,55 $\pm$ 5,25

Die Katalase-Fähigkeit wurde nach der Methode von A.K. SINHA (61) ermittelt, Glycin wurde nach der Methode von GOODWIN und STAMP-WALA (21) und Glutathion nach der Methode von PATTERSON und LAZAROW (46) bestimmt. Die Glycinwerte sind in mg pro 100 ml Serum und die Glutathionwerte in mg pro 100 ml Blut angegeben. Die Werte ergeben sich aus der bei N angegebenen Anzahl von Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

Die Kat-F, Glycin- und Glutathionbestimmungen bei den Kontroll-Personen ergaben aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse keine Geschlechts- und Altersdifferenzen.

3.2. Befunde bei den PCT-Patienten

Bei der Katalase-Fähigkeit in den Erythrozyten der PCT-Patienten wurde - im Vergleich zu den Kontroll-Personen - ein signifikant höherer Wert gemessen. Umgekehrt ist der Glutathion-Spiegel im Blut bei den PCT-Patienten signifikant niedriger als bei den Kontrollen. Der Glycin-Serum-Spiegel von PCT-Patienten und Kontroll-Personen zeigt dagegen keinen signifikanten Unterschied (Tab. 6).

Tabelle 6:

Katalase-Fähigkeit (Kat-F) in den Erythrozyten sowie Glycin- und Glutathion-Gehalt im Serum bzw. Blut von PCT-Patienten und Kontroll-Personen:

	N	PCT-Patienten	N	Kontroll-Personen	p-Wert
Kat-F	44	273,30 $\pm$ 88,13	37	222,60 $\pm$ 63,50	$\leq 0,0025$
Glycin	28	5,38 $\pm$ 2,03	48	5,40 $\pm$ 2,50	0,12
Glutathion	37	30,03 $\pm$ 5,36	51	33,73 $\pm$ 4,89	$\leq 0,005$

Die Katalase-Fähigkeit wurde nach der Methode von A.K. SINHA (61) ermittelt, Glycin wurde nach der Methode von GOODWIN und STAMPWALA (21) und Glutathion nach der Methode von PATTERSON und LAZAROW (46) bestimmt. Die Glycinwerte sind in mg pro 100 ml Serum und die Glutathionwerte in mg pro 100 ml Blut angegeben. Die Werte ergeben sich aus der bei N angegebenen Anzahl von Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

Die p-Werte wurden mit dem Student-T-Test ermittelt.

Es ist denkbar, daß sich die gesteigerte Hämbiosynthese bei der Porphyria cutanea tarda auch in einer vermehrten Bildung des Häm-Enzyms Katalase niederschlägt. Bemerkenswert an dem Ergebnis ist allerdings, daß bei den PCT-Patienten in den Erythrozyten eine Katalase-Aktivitätssteigerung festgestellt wurde, obwohl sich bei der PCT bisher nur im Leberparenchym eine Störung der Hämbiosynthese nachweisen ließ.

Da aber bei der PCT auch eine gesteigerte Erythropoese festgestellt wurde (29), ist anzunehmen, daß ein Zusammenhang zwischen der erhöhten Proliferation im erythropoetischen System und der gefundenen Katalase-Aktivitätssteigerung in den Erythrozyten besteht.

Die in der Leber vermehrt gebildeten Porphyrine werden mit dem Urin ausgeschieden, können von den Geweben (z.B. Erythrozyten) nicht verwertet werden und kommen daher für eine Katalase-Aktivitätserhöhung in den Erythrozyten nicht in Frage.

3.3. Einfluß der Therapien auf die Befunde bei den PCT-Patienten

3.3.1. Aderlaß- und Resochin^R-Therapie

Die Kat-F-, Glycin- und Glutathion-Werte von PCT-Patienten, die mit einer Aderlaß- und/oder Chloroquin- (Resochin^R) Therapie behandelt wurden, sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Tabelle 7:

Katalase-Fähigkeit (Kat-F) in den Erythrozyten sowie Glycin- und Glutathion-Gehalt im Serum bzw. Blut von PCT-Patienten mit einer Aderlaß- und Resochin^R-Therapie:

	N	Aderlaß-Therapie	N	Resochin-Therapie
Kat-F	28	245,50 $\pm$ 77,50	7	289,70 $\pm$ 85,90
Glycin	19	5,61 $\pm$ 2,32	4	5,07 $\pm$ 0,68
Glutathion	24	30,65 $\pm$ 5,98	7	28,90 $\pm$ 5,46

Die Katalase-Fähigkeit wurde nach der Methode von A.K. SINHA (61) ermittelt, Glycin wurde nach der Methode von GOODWIN und STAMP-WALA (21) und Glutathion nach der Methode von PATTERSON und LAZAROW (46) bestimmt. Die Glycinwerte sind in mg pro 100 ml Serum und die Glutathionwerte in mg pro 100 ml Blut angegeben. Die Werte ergeben sich aus der bei N angegebenen Anzahl von Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

Mit dem Student-T-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Parametern der Gruppen festgestellt werden.

Die unveränderten Glycin-Serum-Werte sprechen in erster Linie dafür, daß der Glycin-Pool im Organismus so gut reguliert ist, daß eine gesteigerte Porphyrin-Synthese (d.h. Glycin-Verbrauch) diesen Mechanismus nicht beeinträchtigt. Möglicherweise ist der Organismus aber auch bestrebt, das Glycin ständig auf einer bestimmten Konzentration zu halten.

Der signifikant erniedrigte Glutathion-Spiegel im Blut der PCT-Patienten ist nur schwer zu erklären. Man könnte jedoch diesen Befund mit der gesteigerten Porphyrinbiosynthese und der dafür vermehrt benötigten Substrate begründen. Im ersten Schritt der Porphyrinbiosynthese kondensieren Succinyl-CoA und Glycin zur α -Amino- β -Ketoadipinsäure, woraus nach nicht enzymatischer Decarboxylierung die β -Aminolävulinsäure (ALA) entsteht. Trotz des erhöhten Glycin-Bedarfs bleiben die freien Glycin-Spiegel unverändert. Im Gegensatz dazu sinkt der Glutathion-Spiegel ab, wobei offen bleiben muß, ob eine verminderte Bildung oder ein vermehrter Verbrauch (oder Katabolismus) von Glutathion hierfür verantwortlich ist.

3.3.2. Therapieversuch mit p-Aminobenzoat (PABA) Kasuistische Darstellung

Eine 53-jährige PCT-Patientin wurde nach erfolgloser Aderlaß-Therapie mit p-Aminobenzoat (PABA) behandelt mit einer Potaba^R-Dosierung von 12 g/Tag.

In einem Zeitraum von zwei Monaten normalisierte sich die Porphyrinausscheidung.

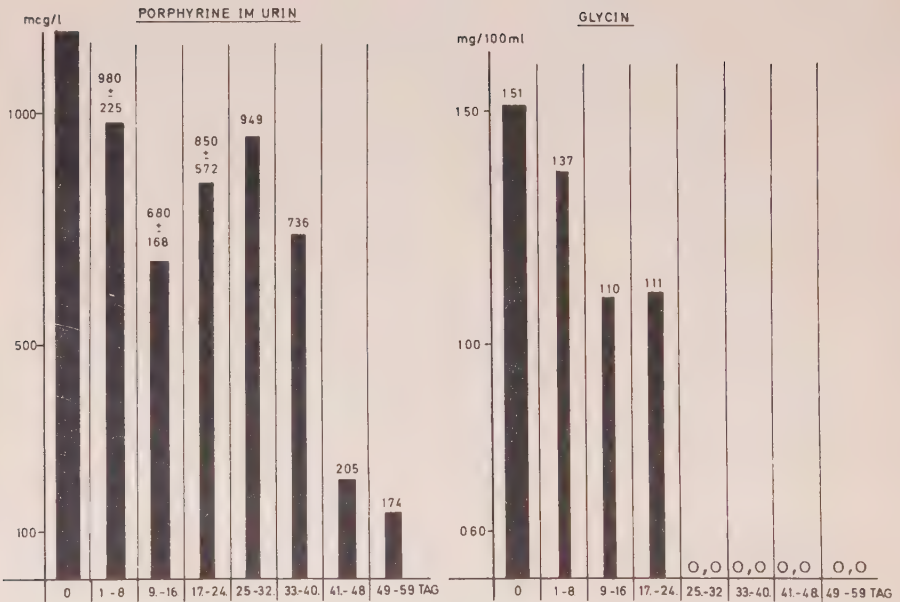
Das Verhalten der Urin-Porphyrine während der Behandlungszeit und der Glycin-Serum-Werte geht aus den Abbildungen 9 und 10 (S. 45) hervor. Innerhalb von 60 Tagen kam es zur Normalisierung der Porphyrinausscheidung und zum starken Absinken des Glycin-Spiegels. Nach dem 24. Behandlungstag wurde kein freies Glycin mehr im Serum dieser Patientin gemessen (Abb. 10).

Der starke Abfall des Glycins unter der Potaba^R-Zufuhr läßt sich nach PIPER und Mitarb. (49) sowie nach TEPHLY und Mitarb. (65) damit erklären, daß das Glycin im menschlichen Organismus an p-Aminobenzoat gekoppelt und als p-Amino-Hippursäure ausgeschieden wird. Durch diese Konjugation soll das Glycin der Bildung von δ -Aminolävulinsäure (ALA) entzogen werden (65). Die verminderte Synthese von ALA führt zu einer herabgesetzten Porphyrinbildung oder zu einer Normalisierung der gesteigerten Porphyrinbiosynthese.

Abb. 9 und 10: Verhalten der Urin-Porphyrine und des Glycin-Spiegels im Serum bei einer PCT-Patientin unter der Therapie mit p-Aminobenzoat (Potaba^R).

Abb. 9

Abb. 10



Die Urin-Porphyrine wurden nach der Standardmethode von DOSS und SCHMIDT (8) in μg pro Liter Urinmenge bestimmt und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt. Das Glycin im Blutserum wurde nach der Methode von GOODWIN und STAMPWALA (21) in mg pro 100 ml bestimmt.

Die Blut-Katalase dieser Patientin wurde ebenfalls über den Zeitraum der PABA-Therapie bestimmt. Die sich ergebenden Kat-F-Werte sind in Tab. 8 dargestellt.

Tabelle 8:

Katalase-Fähigkeit (Kat-F) in den Erythrozyten einer PCT-Patientin unter der Therapie mit p-Aminobenzoat (Potaba^R):

Tag	N	Kat - F
1 - 8	8	311,4 $\pm$ 127,0
9 - 16	3	309,3 $\pm$ 42,2
17 - 24	3	286,0 $\pm$ 74,8
25 - 32	1	273,0
33 - 40	-	n.b. ⁺⁾
41 - 48	2	277,0 $\pm$ 39,6
49 - 59	1	293,4

⁺⁾ n.b. = nicht bestimmt.

Die Katalase-Fähigkeit wurde nach der Methode von A.K. SINHA (61) ermittelt.

Die Werte ergeben sich aus der bei N angegebenen Anzahl von Einzelmessungen und sind als Mittelwert und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) dargestellt.

Die Aktivitätsbestimmung der Blut-Katalase unter PAPA-Einfluß weicht von den unter Aderlaß- und Resochin^R-Therapie gefundenen Werten (Tab. 7) nicht signifikant ab.

Aus dieser Einzelbeobachtung können allerdings keine Rückschlüsse für einen allgemein gültigen Therapieerfolg von PABA bei PCT-Patienten gezogen werden, da weitere Untersuchungen gezeigt haben, daß PABA nicht in jedem Falle wirksam ist (19).

Vielleicht ist der biochemische Defekt bei der PCT nicht einheitlich, so daß PABA nur bei bestimmten Formen der Erkrankung wirksam sein kann. Hierfür sprechen die tierexperimentellen Befunde, wonach die experimentelle durch AIA oder DDC ausgelöste Porphyrurie (49, 65), nicht aber die HCB-bedingte Porphyrurie, durch PABA zu beeinflussen ist.

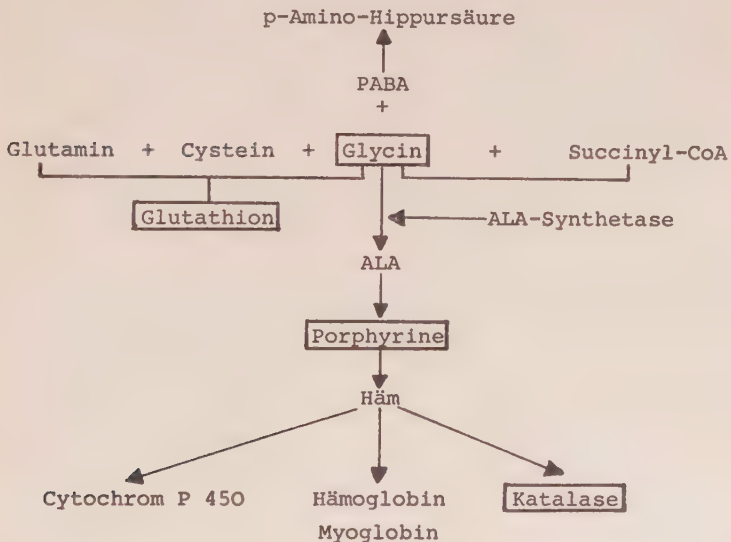
V. Zusammenfassende Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob sich Glycin, Glutathion, Porphyrine und Katalase, die direkt oder indirekt mit dem Hämstoffwechsel im Organismus in Zusammenhang stehen, bei einer manifesten PCT und der HCB-Porphyrie der Ratte (= tierexperimentelles Modell der PCT) verändern.

Weiterhin sollte der Einfluß der verschiedenen Behandlungsmethoden auf diese Größen gemessen werden.

Die Verknüpfung der Parameter im Häm-metabolismus soll in dem nachstehenden Schema (Abb. 11) kurz dargestellt werden:

Abb. 11: Schematische Darstellung der Hämbiosynthese unter Einbeziehung von Glutathion und p-Aminobenzoat (PABA).



Im ersten Schritt der Hämbiosynthese wird Glycin mit Succinyl-CoA durch die ALA-Synthetase zur δ -Aminolävalinsäure (ALA) kondensiert. Die Porphyrine entstehen in enzymatisch gesteuerten Schritten, wobei das Häm das Endprodukt ist (Abb. 1). Durch Konjugation mit Apoproteinen entstehen die lebenswichtigen Proteinkomplexe, wozu u.a. das Hämoglobin, das Myoglobin, das Cytochrom P-450, andere Cytochrome und auch die Katalase zählen.

Das Tripeptid Glutathion, bestehend aus den Aminosäuren Glycin, Glutamin und Cystein kann allein wegen seines Gehaltes an Glycin mit der Hämbiosynthese in Zusammenhang gebracht werden (Abb. 11).

Bei einigen Formen der menschlichen Porphyrie und unter Einwirkung porphyrogener Substanzen (z.B. AIA) wird die ALA-Synthetase vermehrt gebildet. Diese Mehrproduktion ist sekundär die Folge einer metabolischen Störung in der Enzymkette der Biosynthese, die hinter der ALA- und vor der Häm-Bildung liegt, wodurch das Häm - der endogene Inhibitor der ALA-Synthetase - in vermindertem Umfang synthetisiert wird. Die vermehrte ALA-Bildung vermag dann kompensatorisch den Defekt zu überwinden, so daß ausreichende Mengen Häm entstehen. Als weitere Möglichkeit ergibt sich eine Steigerung der ALA-Synthetase bei einer direkten Induktion des Enzyms durch Porphyrogene.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen deuten darauf hin, daß der Glycin-Spiegel durch die erhöhte Porphyrinbiosynthese bei der Porphyria cutanea tarda (PCT) nicht beeinträchtigt wird. Es kommt aber zum Abfall des Tripeptids Glutathion. Dabei muß offenbleiben, ob diese Minderung des Glutathions aufgrund des erhöhten Glycin-Bedarfs für die Porphyrinbiosynthese zustande kommt. Es wäre aller-

dings auch vorstellbar, daß das Glutathion wegen seiner biologischen Entgiftungsfunktion (3, 6) vermehrt in der PCT-Leber benötigt wird.

Mit der PABA-Behandlung wurde versucht, den Glycin-Spiegel zu senken, um dadurch gleichzeitig eine Minderung der Porphyrinbiosynthese zu erreichen. Der vermehrte Entzug von Glycin aus dem Organismus erfolgt dabei durch die Kopplung von Glycin an PABA zur p-Amino-Hippursäure (Abb. 11, S. 48), die mit dem Urin ausgeschieden wird (49, 65).

Therapieversuche bei einigen PCT-Patienten waren auch erfolgreich (16), und es kam zur Normalisierung der Porphyrin-Ausscheidung (Abb. 9, S. 45) bei gleichzeitigem Absinken des freien Glycins (Abb. 10, S. 45). Leider sind diese Ergebnisse nicht einheitlich, so daß die PABA-Therapie für die PCT heute nicht empfohlen werden kann (19).

PABA hat bei der HCB-Porphyrrie der Ratte dagegen keinen Einfluß auf die Porphyrinausscheidung, wenngleich ein vorübergehendes - allerdings geringes - Absinken der Urin-Porphyrine beobachtet werden konnte (Abb. 6, S. 34).

Aufgrund der Tatsache, daß sich im menschlichen Organismus bei einer manifesten PCT ein ca. 5-fach erhöhter Cytochrom P-450-Gehalt in der Leber nachweisen läßt (2) und häufig auch eine Vermehrung des Hämoglobin-Gehaltes in den Erythrozyten (29), erhob sich die Frage, ob sich für andere Häm-Verbindungen bei den PCT-Patienten Veränderungen nachweisen lassen. Deshalb wurde die Katalase - als ein typisches Häm-Enzym - in den Erythrozyten von PCT-Patienten bestimmt.

Auf die Möglichkeit einer Beeinträchtigung der Katalase-Aktivität bei Porphyrien und Lichtdermatosen haben bereits andere Autoren hingewiesen. So fand LANGHOF (34), eine fehlende Katalasefunktion in der Blasenflüssigkeit von PCT-Patienten. FINDLAY (14) bestätigte diesen Befund und wies in der befallenen Haut der PCT-Patienten eine stark reduzierte, in der intakten Haut allerdings eine normale Katalase-Aktivität nach. SCHWARTZ (59) konnte bei seinen Untersuchungen keine signifikant veränderte Katalase in den Erythrozyten von PCT-Patienten feststellen. Dagegen fanden wir bei unseren Untersuchungen eine erhöhte Katalase-Aktivität in den Erythrozyten von PCT-Patienten, das mit der gesteigerten Erythropoese bei der PCT im Zusammenhang stehen könnte. Im Gegensatz dazu konnte bei der experimentellen HCB-Porphyrie der Ratte keine nennenswerte Veränderung der Leber-Katalase festgestellt werden.

VI. Zusammenfassung

Durch HCB-Verfütterung wurde bei weiblichen Wistar-Ratten eine Porphyrie ausgelöst. Bei dem Versuch, diese experimentell erzeugte HCB-Porphyrie durch Zufuhr von p-Aminobenzoat (PABA) wieder auszugleichen, zeigte sich bei den Tieren ein vorübergehendes Absinken der Porphyrin-Ausscheidung. Die völlige Normalisierung der Porphyrin-Ausscheidungswerte unter dem Einfluß von PABA trat bei den Ratten allerdings nicht ein, wie dies von anderen Autoren (49, 65) nach einer experimentellen Porphyrie durch AIA und/oder DDC beobachtet werden konnte.

Die verschiedenen Porphyrogene haben sicher unterschiedliche Angriffspunkte, z.B. der vermehrte Häm-Katabolismus durch AIA. Es ist vorstellbar, daß PABA nur bestimmte Entstehungsmechanismen der experimentellen Porphyrie beeinflussen kann.

In den Tierversuchen konnte zusätzlich gezeigt werden, daß Hexachlorbenzol (HCB) und p-Aminobenzoat (PABA) keinen Einfluß auf die Leber-Katalase bei der Ratte haben.

Bei Patienten mit einer manifesten Porphyria cutanea tarda (PCT) erbrachte die Bestimmung des Glycins im Serum, des Glutathions im Blut und der Katalase-Aktivität in den Erythrozyten im Vergleich zu Kontrollpersonen folgende Ergebnisse:

- a) Signifikant erhöhte Katalase-Aktivität
- b) Signifikant erniedrigter Glutathion-Wert
- c) Keine Veränderung des Glycin-Spiegels

Die Aktivitätserhöhung der Blut-Katalase bei PCT-Erkrankten, die sich auch unter den verschiedenen Behandlungsmöglichkeiten (Aderlaß, Chloroquin, PABA) nicht normalisiert, könnte mit der gesteigerten Erythropoese bei dieser Porphyrie zusammenhängen.

Für den herabgesetzten Glutathiongehalt im Blut von PCT-Patienten wird vermutet, daß wegen des vermehrten Bedarfs von Glycin für die Porphyrin-Biosynthese nicht ausreichend genug Glutathion bereitgestellt werden kann. Wegen einer gesteigerten Hydroxylierungs-Aktivität in der PCT-Leber (erhöhter Cytochrom P 450-Gehalt) wäre auch ein vermehrter Glutathion-Bedarf und -Verbrauch vorstellbar, der für das Absinken des Glutathion-Spiegels verantwortlich sein könnte.

Am Beispiel einer PCT-Patientin konnte dagegen gezeigt werden, daß sich unter dem Einfluß der PABA-Therapie neben den Porphyrinausscheidungsgrößen auch der Glycin-Spiegel im Serum reduziert.

VII. Abkürzungsverzeichnis

AIA	2-Allyl-2-isopropylacetamid
AIP	Akute intermittierende Porphyrie
ALA	δ -Aminolävulinsäure
CoA	Coenzym A in Thioesterbindung
DDC	Dicarbaethoxy-dihydro-collidin
EPP	Erythropoetische Protoporphyrurie
HCB	Hexachlorbenzol
Kat-F	Katalase-Fähigkeit
M	molar
N	normal
PABA	p-Amino-Benzoic-Acid = p-Aminobenzoessäure = p-Aminobenzoat
PBG	Porphobilinogen
PCT	Porphyria cutanea tarda

VIII. Literaturverzeichnis

1. AUST, D.: Klinische und biochemische Untersuchungen zur Porphyrria congenita GÜNTHER.
Inaug.-Diss., Düsseldorf 1972
2. BLEKKENHORST, G., Porphyrria cutanea tarda in South Africa.
PIMSTONE, N.R., in: Porphyrins in Human Diseases
EALES, L.: Hrsg.: M. Doss
Karger-Verlag, Basel 1976
3. BOOTH, J., An enzyme from rat liver catalysing conju-
BOYLAND, E., gations with glutathione.
SIMS, P.: J.Biochem. 79; 516-524 (1961)
4. BUDECKE, E.: Grundriss der Biochemie.
Porphyrine.
4. Aufl. 1974
Walter De Gruyter-Verlag, Berlin, New York
5. CAM, C., Acquired toxic porphyria cutanea tarda
NIGOGOSYAN, G.: due to hexachlorobenzene.
J.Amer.Med.Ass. 183; 88-91 (1963)
6. CHASSEAUD, L.F.: The nature and distribution of enzymes
catalyzing the conjugation of glutathione
with foreign compounds.
Drug.Metab.Rev. 2; 185-220 (1973)
7. DOSS, M.: Suggested pathobiochemical development of
chronic hepatic porphyrias.
Klin.Wschr. 49; 941-942 (1971)
8. DOSS, M., Rapid determination of urinary total por-
SCHMIDT, A.: phyrins by ion exchange chromatography.
Z.klin.Chem.u.klin.Biochem. 9; 415-418 (1971)
9. DOSS, M., Charakteristische Konstellation der Uro-
MEINHOF, W., porphyrine als biochemischer Index der
MALCHOW, H., Porphyrria cutanea tarda.
SODOMANN, C-P.: Klin.Wschr. 48; 1132-1134 (1970)
10. DOSS, M., NAWROCKI, P., Einfluß von Diät, Glycin und Alkohol auf
SCHMIDT, A., KORB, G., die Porphyrinurie bei chronisch hepatischer
STROHMAYER, G., Porphyrie.
EGBRING, R., DÖLLE, W., Dtsch.med.Wschr. 96; 1229-1231 (1971)
SCHIMPF, G.:

11. DUESBERG, R.: Vereinigung der Münchner Fachärzte für innere Medizin.
Fall: Toxische Porphyrie.
Muench.Med.Wochschr. 79; 1821-1822 (1932)
12. VON EULER, H.,
JOSEPHSON, K.: Über Katalase I.
J. Liebig's Ann.Chem. 452; 158-181 (1926)
13. FILIPPINI, L.: Die Therapie der akut intermittierenden Porphyrie.
Dtsch.med.Wschr. 91; 959-961 (1966)
14. FINDLAY, G.H.: Catalase activity in human epidermis.
Brit.J.Derm. 75; 326-330 (1963)
15. FISCHER, H.,
DUESBERG, R.: Über Porphyrine bei klinischer und experimenteller Porphyrie.
Arch.Exp.Pathol.Pharmakol. 166; 95-100 (1932)
16. GOERZ, G.,
KRIEG, Th.,
BOLSEN, K.: Porphyria cutanea tarda: Normalisierung der Porphyrin-Ausscheidung unter p-Aminobenzoat (Potaba^R).
Arch.Derm.Res. 255; 331-335 (1976)
17. GOERZ, G.,
KRIEG, Th.,
EICHENAUER, M.G.: Zwischenfall bei der Behandlung der Porphyria cutanea tarda mit Chloroquin (Resochin^R).
Arch.Derm.Res. 255; 169-176 (1976)
18. GOERZ, G.,
IPPEN, H.: Carotinoid-Behandlung von Lichtdermatosen.
Dtsch.med.Wschr. 102; 1051-1055 (1977)
19. GOERZ, G.,
KRIEG, Th.,
BOLSEN, K.: Therapeutische Möglichkeiten bei der Porphyria cutanea tarda.
Hautarzt 28; Suppl.II 254-256 (1977)
20. GOLDBERG, A.,
RIMINGTON, C.: Diseases of porphyrin metabolism.
Ch.C.Thomas, Springfield (1962)
21. GOODWIN, J.F.,
STAMPWALA, S.: Spectrophotometric quantification of glycine in serum and urine.
Clin.Chem. 19; 1010-1015 (1973)
22. GRANICK, S.: The induction in vitro of the synthesis of δ -aminolevulinic acid synthetase in chemical porphyria: a response to certain drugs, sex hormones, and foreign chemicals.
J.biol.Chem. 241; 1359-1375 (1966)

23. HEILMEYER, L.,
CLOTTEN, R.,
HEILMEYER, L. jr.: Die Störungen der Bluthämsynthese.
G. Thieme-Verlag, Stuttgart (1964)
24. IPPEN, H.: Zur Pathogenese der Porphyria cutanea tarda.
Arch.klin.exp.Derm. 212; 467-494 (1961)
25. IPPEN, H.: Allgemeinsymptome der späten Hautporphyrie
(Porphyria cutanea tarda).
Als Hinweis für deren Behandlung.
Dtsch.med.Wschr. 86; 127-133 (1961)
26. IPPEN, H.: Die Porphyrinkrankheiten.
in: Klinik der Gegenwart Bd. VI,
Neufassung von Febr. 1973
Hrsg.: H.E. Bock, W. Gerok, F. Hartmann,
Urban & Schwarzenberg-Verlag, München-
Berlin-Wien
27. IPPEN, H.,
AUST, D.: Klinisch-experimentelle Untersuchungen zur
Entstehung der Porphyrien.
Arch.Derm.Forsch. 245; 110-124 (1972)
28. IPPEN, H.: Persönliche Mitteilungen (1976)
29. IPPEN, H.,
GEHRMANN, G.: Untersuchungen zur Erythropoese bei der
Porphyria cutanea tarda.
Klin.Wschr. 39; 1060-1064 (1961)
30. KALIVAS, J.T.,
PATHAK, M.A.,
FITZPATRICK, T.B.: Phlebotomy and iron-overload in porphyria
cutanea tarda.
Lancet 1; 1184-1187 (1969)
31. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Porphyrine und Zellhämine.
9. Aufl. 1974
G. Thieme-Verlag, Stuttgart
32. KORDAC, V.,
SEMRADOVA, M.: Treatment of porphyria cutanea tarda with
chloroquine.
Brit.J.Derm. 90; 95-100 (1974)
33. KOSENOW, W.,
TREIBS, A.: Lichtüberempfindlichkeit und Porphyrinämie.
Z.Kinderheilk. 73; 82-92 (1953)
34. LANGHOF, H.: Untersuchungs- und Behandlungsergebnisse
bei cutaner Porphyrie.
Dtsch.Gesdh.Wes. 14; 1791-1800 (1959)

35. LANGHOF, H.,
MÜLLER, H.,
RIETSCHEL, L.: Untersuchungen zur familiären, protoporphyrinämischen Lichturticaria.
Arch.klin.exp.Derm. 212; 506-518 (1961)
36. LOTTSFELDT, F.J.,
LOBRE, R.F.: Some cytologic changes of rat liver in experimental porphyria.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 119; 226-229 (1965)
37. LOWRY, O.H.,
ROSEBROUGH, N.J.,
FARR, A.L.,
RANDALL, R.S.: Protein measurement with the folin phenol reagent.
J.biol.Chem. 193; 265-275 (1951)
38. MAGNUS, I.A.,
JARRETT, A.,
PRANKERD, T.A.J.,
RIMINGTON, C.: Erythropoietic protoporphyria. A new type porphyric syndrome with solar urticaria due to protoporphyrinaemia.
Lancet II; 448-451 (1961)
39. MARVER, H.S.,
SCHMID, R.: The porphyrias.
in: The metabolic basis of inherited disease.
Hrsg.: J.B. Stanbury, J.B. Weingaarden, D.S. Fredrickson; 3. Aufl. 1972
McGraw-Hill Book Company, New York
40. MASUYA, T.: Pathophysiological observations on porphyrias.
Acta haemat.Japon. 32; Nr. 4 (1969)
41. MATHEWS-ROTH, M.M.,
PATHAK, M.A.,
FITZPATRICK, T.B.,
HARBER, L., KASS, E.: Beta-carotene as a photoprotective agent in erythropoietic protoporphyria.
New Engl.J.Med. 282; 1231-1234 (1970)
42. DE MATTEIS, F.,
PRIOR, B.E.,
RIMINGTON, C.: Nervous and biochemical disturbances following hexachlorobenzene intoxication.
Nature 191; 363-366 (1961)
43. MEYER, U.A.,
STRAND, L.J.,
DOSS, M., REES, A.C.,
MARVER, H.S.: Intermittent acute porphyria-demonstration of a genetic defect in porphobilinogen metabolism.
New Engl.J.Med. 286; 1277-1282 (1972)
44. MOSES, H.L.,
STEIN, J.A.,
TSCHUDY, D.P.: Hepatocellular changes associated with allylisopropyl-acetamid induced hepatic porphyria in rats.
Lab.Invest. 22; 432-442 (1970)
45. OCKNER, R.K.,
SCHMID, R.: Acquired porphyria in man and rat due to hexachlorobenzene intoxication.
Nature 189; 499 (1961)

46. PATTERSON, J.W.,
LAZAROW, A.:
Determination of reduced glutathione in blood.
in: Clinical chemistry, principles and
technics.
Hrsg.: R.J. Henry, D.C. Cannon, J.W. Winkel-
man; 2. Aufl. 1974
Harper & Row, Publishers, Hagerstown,
Maryland
47. PEARSON, R.W.,
MALKINSON, F.D.:
Some observations on hexachlorobenzene
induced experimental porphyria.
J. invest.Derm. 44; 420-432 (1965)
48. PETERS, H.-A.,
JOHNSON, S.A.M.,
CAM, S., ORAL, S.,
MÜFTÜ, Y.,
ERGENE, T.:
Hexachlorobenzene induced Porphyria:
Effect of chelation on the disease,
porphyrin and metal metabolism.
Amer.J.med.Sci. 251; 314-322 (1966)
49. PIPER, W.N.,
CONDIE, L.W.,
TEPHLY, T.R.:
The role of substrates for glycine acyltrans-
ferase in the reversal of chemically induced
porphyria in the rat.
Arch.Biochem. 159; 671-677 (1973)
50. RAPOPORT, S.M.:
Medizinische Biochemie.
Porphyrine und Hämoproteine.
6. Aufl. 1975
VEB-Verlag, Volk und Gesundheit, Berlin
51. RIMINGTON, C.,
ZIEGLER, G.:
Experimental porphyria in rats induced by
chlorinated benzenes.
Biochem.Pharmacol. 12; 1387-1397 (1963)
52. SCHMIDT, D.,
STICH, W.:
Erythropoetische Protoporphyrinurie mit Porphyrinurie.
Blut 22; 202-210 (1971)
53. SCHMID, R.:
Cutaneous porphyria in turkey.
New Engl.J.Med. 263; 397-398 (1960)
54. SCHMID, R.,
SCHWARTZ, S.:
Experimental Porphyria. III.
Hepatic type produced by sedormid.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 81; 685-689 (1952)
55. SCHMID, R.,
FIGEN, J.,
SCHWARTZ, S.:
Experimental porphyria. IV.
Studies of liver catalase and other heme
enzymes in sedormid porphyria.
J.Biol.Chem. 217; 263-274 (1955)

68. WALDENSTRÖM, J.: Klinik genbedingter Stoffwechsel- und Strukturanomalien.
64. Kongreß d.Dtsch.Ges.inn.Med.,
S. 181-191, J.F. Bergmann-Verlag ,
München (1959)
69. WALDENSTRÖM, J.: The porphyrias as imborn errors of metabolism.
Amer.J.Med. 22; 759-773 (1957)
70. WALLMEIER, K.H.: Über das Porphyrinvorkommen in der Leber
(Untersuchung an 842 Fällen).
Inaug.-Diss., Düsseldorf 1964
71. WATSON, C.J.: Some recent advances in the problem of erythropoietic porphyria.
Act.med.scand.Suppl. 445; 25-35 (1966)

IX. Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Dr. phil. A. GREITHER,
Direktor der Universitäts-Hautklinik, Düsseldorf,
danke ich für die mir gewährte Arbeitsmöglichkeit
an seiner Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med.
G. GOERZ für die Überlassung des Themas, für seine
ständige Hilfsbereitschaft, für seine fördernden
Diskussionen und für die Hilfe bei der Abfassung
des Textes.

Bei Herrn Dr. med. Th. KRIEG und Herrn K. BOLSEN
bedanke ich mich für die Einweisung in die Methodik,
die freundliche Hilfe bei der Versuchsdurchführung
und für die Unterstützung bei der Auswertung der Er-
gebnisse.

Herr Dr. rer. nat. O. RICHTER (Institut für Medizini-
sche Statistik und Biomathematik, Düsseldorf, Dir. Prof.
Dr. H. J. Jesdinsky) war mir bei der Beurteilung der
statistischen Parameter behilflich.

Herrn Dr. rer. nat. W. VIZETHUM danke ich für einige
technische Hinweise bei der Abfassung der Arbeit.

X. Lebenslauf

Am 1. Dezember 1943 wurde ich als viertes Kind der Eheleute Anton und Maria Stenzel in Schleiz/Thür. geboren.

Nach acht Volksschuljahren in Düsseldorf begann ich eine dreijährige Lehre, die mit der Kaufmanns-gehilfenprüfung 1961 endete.

Während meiner Tätigkeit als Versicherungskaufmann besuchte ich von 1965 bis 1969 das Abendgymnasium der Stadt Düsseldorf, an dem ich nach sieben Semestern im Frühjahr 1969 die Reifeprüfung bestand.

Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Wintersemester 1969/70 an der Freien Universität Berlin. Dort bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung im Sommersemester 1970, das Physikum im Wintersemester 1971/72 und nach dem zehnten Studiensemester das Zahnmedizinische Staatsexamen (1975).

Seit dem 1. April 1975 arbeite ich als Assistenz-Zahnarzt in einer zahnärztlichen Praxis.

